

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

Departamento de Estomatología II (Odontología Conservadora)



TESIS DOCTORAL

**Estudio in vitro de la efectividad de las distintas técnicas de irrigación
en la eliminación del enterococcus faecalis**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTORA

PRESENTADA POR

María Cámara Rivera

Director

Ernesto García Barbero

Madrid, 2016

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

Departamento de Estomatología II (Odontología Conservadora)



**ESTUDIO IN VITRO DE LA EFECTIVIDAD DE LAS
DISTINTAS TÉCNICAS DE IRRIGACIÓN EN LA ELIMINACIÓN
DEL *ENTEROCOCCUS FAECALIS***

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

María Cámara Rivera

Bajo la dirección del Doctor

Ernesto García Barbero

Madrid, 2015

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

Departamento de Estomatología II (Odontología Conservadora)



**ESTUDIO IN VITRO DE LA EFECTIVIDAD DE LAS
DISTINTAS TÉCNICAS DE IRRIGACIÓN EN LA ELIMINACIÓN
DEL *ENTEROCOCCUS FAECALIS***

MEMORIA

que para la obtención del Grado de Doctor en Odontología,

presenta

Dña. María Cámara Rivera

Licenciada en Odontología

Madrid, 2015

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

Departamento de Estomatología II (Odontología Conservadora)



**ESTUDIO IN VITRO DE LA EFECTIVIDAD DE LAS
DISTINTAS TÉCNICAS DE IRRIGACIÓN EN LA ELIMINACIÓN
DEL *ENTEROCOCCUS FAECALIS***

TESIS DOCTORAL

Dña. María Cámara Rivera

Licenciada en Odontología

DIRECTOR

Dr. D. Ernesto García Barbero

Madrid, 2015



DEPARTAMENTO DE
ODONTOLOGÍA CONSERVADORA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
Plaza de Ramón y Cajal, s/n
Ciudad Universitaria
28040 Madrid

**ERNESTO GARCÍA BARBERO, PROFESOR TITULAR DEL
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGÍA CONSERVADORA DE LA
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE
MADRID,**

CERTIFICA: que el siguiente trabajo titulado “ESTUDIO IN VITRO DE LA EFECTIVIDAD DE LAS DISTINTAS TÉCNICAS DE IRRIGACIÓN EN LA ELIMINACIÓN DEL ENTEROCOCCUS FAECALIS” ha sido realizado bajo mi dirección por **Dña. María Cámara Rivera** y reúne, en mi criterio, los requisitos y méritos suficientes para optar, mediante el mismo, al grado de Doctor en Odontología por la Universidad Complutense de Madrid.

Y para que conste a los efectos oportunos, firmo el presente certificado en Madrid a 13 de octubre de dos mil quince.

Fdo. Prof. Dr. Ernesto García Barbero
PROFESOR TITULAR DEL DEPARTAMENTO DE
ODONTOLOGÍA CONSERVADORA

A mis padres y mi hermano, por
estar siempre ahí

A Isa, por ser la luz de mi vida y
a Dieguete, porque lo será

A Diego, por “nuestro equipo”

AGRADECIMIENTOS

Cómo no, en primer lugar, me gustaría mostrar mi más sincero agradecimiento al director de esta Tesis Doctoral, el Doctor Ernesto García-Barbero, que siempre ha tenido una sonrisa y unas de palabras de ánimo cuando las cosas no salían como esperaba.

Gracias por tu paciencia, por tu ayuda, en todas las situaciones, mejores y peores, durante estos años, pero sobre todo por hacerme amar este mundo de la endodoncia.

También me gustaría agradecer a Mari Carmen, nuestra secretaria – madre, que desde mi primer día en el Máster de Endodoncia, siempre he podido contar con ella para todo.

Esta Tesis no habría sido posible sin la colaboración del Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Odontología de la Universidad Complutense de Madrid. Gracias a todas, que me abrieron las puertas del laboratorio y me hicieron sentir como en casa, pero sobre todo a Itziar, que me ha enseñado, y con su paciencia y su amabilidad me ha hecho estas mañanas entre bacterias de lo más divertidas.

Por supuesto a mis padres. Ellos son los que me han guiado en la vida. Siempre me han apoyado en todo, me han animado, en definitiva, se han dejado “la piel” por nosotros.

A mi hermano, por ser una alegría y por supuesto, por sus habilidades con la fotografía, que en el momento que necesitaba de su arte, no había horarios para ayudarme.

A mis amigos, que han soportado charlas de mi tesis, algunos sin saber de lo que hablaba, y sobre todo a Pame, que desde hace 20 años, hemos estado juntas, me ha ayudado y me ha quitado “mis agobios”.

A Isa, por ser lo mejor que me ha pasado en la vida y a Dieguete porque lo va a ser.

Por último a Diego, el que más me ha acompañado en este viaje, siempre me ha animado y apoyado, por ser el mejor profesor de informática, traductor de inglés y en definitiva, por ser mi TANDEM. Mil gracias por estar conmigo y formar una familia genial.

**ESTUDIO IN VITRO DE LA
EFECTIVIDAD DE LAS DISTINTAS
TÉCNICAS DE IRRIGACIÓN EN LA
ELIMINACIÓN DEL
*ENTEROCOCCUS FAECALIS***

Índice

ÍNDICE

1	Justificación.....	16
2	Introducción	22
2.1	Infección del sistema de conductos	24
2.2	Características microbiológicas del <i>Enterococcus faecalis</i>	26
2.3	Importancia de la irrigación.....	28
2.4	Características del irrigante ideal para endodoncia	30
2.5	Soluciones irrigantes más utilizadas en endodoncia.....	31
2.5.1	Hipoclorito de sodio	31
2.5.2	Clorhexidina	37
2.5.3	Quelantes	38
2.5.4	Combinación de irrigantes	40
2.6	Régimen sugerido de irrigación.....	42
2.6.1	Propuesta de irrigación:.....	42
2.7	Nuevos Irrigantes.....	43
2.8	Técnicas de irrigación endodóntica	45
2.8.1	Técnicas de agitación manual	46
2.8.2	Sistema de agitación ayudado por máquinas:	52
2.8.3	Fenómeno Vapor Lock.....	65
3	Hipótesis de trabajo	70
4	Objetivos	74
5	Material y Método	78
5.1	Material.....	80

5.2	Método.....	82
5.2.1	Selección de dientes	82
5.2.2	Preparación de las muestras	82
5.2.3	Infección Dental	86
5.2.4	Procesamiento de los dientes infectados	87
5.2.5	Grupos experimentales	88
5.2.6	Recuento del número de bacterias.....	92
5.2.7	Análisis Estadístico	96
6	Resultados	98
6.1	Tablas de Resultados	101
6.2	Estadística descriptiva	115
6.2.1	Irrigación con jeringa convencional sin activación en cámara pulpar 115	
6.2.2	Irrigación con activación sónica en cámara pulpar	116
6.2.3	Irrigación con activación ultrasónica en cámara pulpar.....	117
6.2.4	Irrigación sin activación en ápice.....	118
6.2.5	Irrigación con activación sónica en ápice	119
6.2.6	Irrigación con activación ultrasónica en ápice	120
6.3	Estadística Analítica	121
6.3.1	Eficacia en la eliminación del <i>Enterococcus faecalis</i> de la combinación de hipoclorito sódico con ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) sin activación y con activación.....	121
6.4	Eficacia en la eliminación de <i>Enterococcus faecalis</i> comparando 3 técnicas de irrigación/activación.....	129
6.4.1	Eficacia en la eliminación de <i>Enterococcus faecalis</i> de las 3 técnicas en cámara pulpar.....	129
6.4.2	Eficacia en la eliminación de <i>Enterococcus faecalis</i> de las 3 técnicas en ápice 133	

6.5 Comparación de la eficacia en la eliminación del <i>Enterococcus faecalis</i> de cada técnica de irrigación dependiendo de la longitud del conducto.....	136
6.5.1 Irrigación sin activación	136
6.5.2 Irrigación sónica.....	138
6.5.3 Irrigación con activación ultrasónica	139
6.6 Eficacia en la eliminación del <i>Enterococcus faecalis</i> de las tres técnicas de irrigación estudiadas al repetir el ciclo irrigación/activación 3 veces	142
6.6.1 Efecto acumulativo en la eliminación de <i>Enterococcus faecalis</i> al realizar 3 ciclos de irrigación/aspiración Sin activación en cámara pulpar y ápice	142
6.6.2 Efecto acumulativo en la eliminación de <i>Enterococcus faecalis</i> al realizar 3 ciclos de irrigación/aspiración con activación sónica en cámara pulpar y ápice	145
6.6.3 Efecto acumulativo en la eliminación de <i>Enterococcus faecalis</i> al realizar 3 ciclos de irrigación/aspiración con activación ultrasónica en cámara pulpar y ápice.....	147
7 Discusión.....	150
7.1 Material y Método	152
7.1.1 Selección y preparación de los dientes.....	152
7.1.2 Elección del irrigante	154
7.1.3 Elección del microorganismo.....	158
7.1.4 Control Positivo y Negativo.....	160
7.1.5 Elección de las técnicas de irrigación/activación.....	161
7.2 Resultados.....	164
7.2.1 Acción del combinado Hipoclorito sódico más ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) frente al <i>Enterococcus faecalis</i>	164
7.2.2 Eficacia en la eliminación del <i>Enterococcus faecalis</i> comparando las 3 técnicas	166

7.2.3	Comparación de la eficacia en la eliminación del <i>Enterococcus faecalis</i> de cada técnica dependiendo de la longitud del conducto.	171
7.2.4	Eficacia en la eliminación del <i>Enterococcus faecalis</i> de las técnicas de irrigación al repetir el ciclo de irrigación/activación 3 veces	174
8	Conclusiones	176
9	Abstract	180
10	Resumen	186
11	Bibliografía.....	192

1 Justificación

JUSTIFICACIÓN

El éxito de la endodoncia depende de la limpieza, desinfección y posterior obturación tridimensional del sistema de conductos radiculares (1). Y en particular, la irrigación es un paso indispensable para lograr esa desinfección (2).

Con la irrigación se pretende eliminar la capa residual, compuesta por restos orgánicos e inorgánicos, incluyendo microorganismos que podrían permanecer viables en su interior y ser la causa de reagudizaciones (3).

La desinfección del sistema de conductos, empleando antimicrobianos y disolventes de tejido pulpar, es considerada una parte esencial en la preparación químico-mecánica del mismo (4).

Estudios *in vitro* y la evidencia clínica han demostrado que la instrumentación por sí sola no es suficiente para erradicar los microorganismos por completo y de forma permanente (5-7). Ya que, restos de tejido pulpar, bacterias, detritus dentinarios, toxinas, etc. pueden permanecer en áreas no instrumentadas del conducto una vez se ha llevado a cabo la fase de instrumentación (8, 9).

Ya en 1981, Bystrom y Sundqvist demostraron que la instrumentación rotatoria reduce el número de bacterias sólo en un 50%. Como consecuencia, se han empleado numerosos irrigantes a lo largo de los años para la desinfección del conducto radicular. (5, 6, 10, 11)

A lo largo de la historia de la endodoncia podemos encontrar en la literatura multitud de estudios que analizan la efectividad de los irrigantes, observando principalmente su capacidad antimicrobiana, (12, 13) poder de disolución de materia orgánica/inorgánica y poder de arrastre (14)

A día de hoy no existe un irrigante que pueda efectuar por sí mismo todas las acciones para una irrigación efectiva, por tanto se recurre a la combinación de irrigantes, utilizando uno como desinfectante y otro como quelante.

Como irrigante con acción desinfectante el más común es el hipoclorito de sodio (NaOCl) (6) y como agente quelante el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) (15)

Existen zonas del sistema de conductos inaccesibles a la instrumentación, tanto manual como mecánica, por lo que se han utilizado diferentes sistemas de colocación del irrigante y de agitación del mismo para intentar que el irrigante alcance esas zonas. (16)

En las últimas décadas, estos mecanismos han sido mejorados notablemente, gracias a la investigación y al avance tecnológico. Así, estos sistemas han pasado a ser procedimientos clínicos científicamente probados. Los profesionales reconocen la fiabilidad y facilidad del manejo de estos nuevos sistemas, e incluso los pacientes demandan ser tratados con estos instrumentos.

La jeringa convencional es todavía ampliamente aceptada (9), aunque su baja acción no es suficiente para eliminar los detritus presentes en las irregularidades del sistema de conductos (8, 17). La acción de los ultrasonidos para la activación del irrigante ha sido ampliamente documentada (18, 19) y tiene el potencial para eliminar gran parte de los restos de tejido orgánico e inorgánico de las áreas inaccesibles para la instrumentación (20, 21).

Por tanto el empleo de nuevos mecanismos de desinfección y limpieza dentro del campo endodóntico ha supuesto en los últimos años, un gran avance para mejorar la calidad de nuestros tratamientos.

Además el conocimiento de la flora bacteriana del interior de los conductos radiculares, ha contribuido a un aumento de la preocupación acerca de la capacidad de descontaminación de los mismos (22).

El *Enterococcus* es la especie bacteriana que con más frecuencia se aísla en el diente con infección persistente tras el tratamiento endodóntico de la raíz (23).

Diferentes exámenes bacteriológicos han demostrado que el *Enterococcus faecalis* está presente en el 30-80% de dientes con infección post-tratamiento (24, 25). Estos hallazgos destacan la capacidad del *Enterococcus faecalis* para sobrevivir en unas condiciones ambientales muy complicadas, como es, el medio del conducto radicular tras un tratamiento endodóntico (26, 27).

El crecimiento microbiano en forma de biofilm es un proceso adaptable que permite a los microorganismos sobrevivir en condiciones de crecimiento límites (28).

La habilidad de *Enterococcus faecalis* para formar un biofilm calcificado en la dentina puede ser un factor que contribuya a la persistencia del mismo después del tratamiento (29). Los rasgos estructurales del biofilm permiten la transferencia eficiente de sustancias nutritivas, eliminación de materiales de desecho, y circulación de metabolitos secundarios, feromonas y un importante incremento de la resistencia a los antibióticos

Con este trabajo, intentaremos observar las ventajas en la desinfección de los conductos radiculares así como la eliminación del *Enterococcus faecalis* utilizando los 3 tipos de técnicas de irrigación más frecuentes, como son la jeringa convencional, la irrigación sónica y la irrigación ultrasónica

Por las características del *Enterococcus faecalis* y por la necesidad de cumplir con el objetivo biológico principal de la endodoncia, resulta interesante saber hasta qué punto, la combinación de irrigantes como el hipoclorito de sodio (NaOCl) y el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), activándolos con las últimas tecnologías, aumentan su eficacia en la eliminación de esta bacteria. También nos interesa saber si la activación del irrigante, además de favorecer su penetración en el sistema de conductos radiculares, aumenta la capacidad bactericida de dicha combinación de irrigantes

2 Introducción

INTRODUCCIÓN

2.1 Infección del sistema de conductos

El éxito del tratamiento endodóntico depende de la eliminación de los microorganismos del sistema de conductos radiculares. El control de la infección durante la terapia endodóntica es dificultoso, las técnicas convencionales de irrigación y medicación intraconducto no siempre logran una desinfección eficaz. (30)

El objetivo principal de la instrumentación es la limpieza mecánica del sistema de conductos radiculares y la creación de un espacio para la entrada de las sustancias antimicrobianas (31)

Hoy en día no cabe duda de que los microorganismos, debido a su presencia en el conducto radicular después del tratamiento, o bien, debido a la recolonización del sistema de conductos radiculares después de la obturación del mismo, son la causa principal del fracaso endodóntico (25, 32)

La infección del conducto radicular ocurre más frecuentemente como consecuencia de una lesión cariosa profunda. (33). Otras causas frecuentes son los cracks o los traumatismos en la estructura de la corona que se extienden a la cámara pulpar, pudiendo ser la causa de una infección endodóntica.

Independientemente de la penetración microbiana, se debe diferenciar entre los casos vitales y no vitales (34).

La pulpitis es la reacción del huésped frente a patógenos oportunistas de la cavidad oral que entran en el espacio endodóntico (35). El tejido pulpar vital puede defenderse de los microorganismos y permanecer un tiempo largo sin infectar hasta que finalmente, el tejido pulpar termina por necrosarse gradualmente (33) Por el contrario, el espacio pulpar de los dientes no vitales con signos radiográficos de rarefacción periapical siempre albergan microorganismos cultivables. En consecuencia, el

tratamiento de los casos vitales debe centrarse en prevenir que la infección penetre en la parte apical del conducto radicular. (36)

A medida que las defensas del huésped pierden espacio y el diente comienza a perder su vitalidad, microorganismos oportunistas, que son capaces de sobrevivir duras condiciones ambientales y a una baja cantidad de oxígeno, se agregan al sistema de conductos radiculares (37). Estos microorganismos pueden sobrevivir en restos orgánicos de tejido pulpar y también en el exudado del periodonto. (38, 39). En consecuencia, grupos de microorganismos de este tipo son típicamente encontrados en el área apical del conducto radicular en dientes necróticos o con fallo endodóntico. (37)

Las infecciones primarias del conducto radicular son polimicrobianas, dominadas por bacterias anaerobias. Los microorganismos aislados con mayor frecuencia antes del tratamiento de conductos son los bacilos gram-negativos, cocos anaerobios gram-positivos, bacilos anaerobios y facultativos gram-positivos, lactobacilos y estreptococos gram-positivos facultativos (38). Los anaerobios estrictos son fáciles de eliminar en el tratamiento de conductos. Por otro lado, las bacterias facultativas como estreptococos, enterococos y lactobacilos, una vez establecidos, tiene más probabilidades de sobrevivir a la instrumentación y a la medicación químico-mecánica de la raíz (40).

En particular, los *Enterococcus faecalis*, han llamado la atención de la literatura endodóntica, ya que con frecuencia se pueden aislar en los conductos radiculares donde el tratamiento endodóntico ha fracasado (41). Además, también se pueden encontrar en los conductos radiculares asociados a periodontitis apical resistente a la terapia endodóntica (42)

2.2 Características microbiológicas del *Enterococcus faecalis*

El *Enterococcus faecalis* (*E. f*) es un coco gram positivo, que puede aparecer solo, en pares o en cadenas.

Es un microorganismo anaerobio facultativo y su crecimiento óptimo ocurre a 37° C, sin embargo también se ha observado crecimiento entre 10 y 45 °C (28)

Una característica importante es su habilidad para crecer en medios con pH ácido y alcalino, donde este último normalmente inhibe el crecimiento y supervivencia de otros muchos microorganismos. En relación a esto, McHugh y cols, evaluaron el pH necesario para inhibir su crecimiento y el experimento *in vitro* demostró que se necesita un pH mayor de 11 para su erradicación (43).

Hay autores que sugieren que esta resistencia al pH se atribuye a la membrana citoplasmática y al sistema de transporte de protones vinculado al ATP.(44)

El *E. f* también ha demostrado ser capaz de formar comunidades microbianas adheridas a superficies o “biofilm”

El biofilm puede ser definido como comunidades de microorganismos adheridos a una superficie y embebidos en una matriz de polisacáridos y proteínas formando una capa viscosa

Algunas investigaciones han demostrado la presencia de biofilms de *E. f* en el sistema de conductos radiculares de dientes extraídos (45). La formación de biofilms por parte del *E. f* constituye una evidencia contundente de que éste puede colonizar los conductos radiculares. Cuando esta especie crece en biofilms, puede ser hasta mil veces más resistente a la acción de los antimicrobianos que cuando se haya como bacteria planctónica (suspendida en medio líquido y no adherida a ninguna superficie (46)

Si la formación de biofilms que contienen *E. f* ocurre *in vivo*, se podría considerar como un mecanismo para resistir un tratamiento antimicrobiano.(45)

En conclusión, el concepto de biofilm y las condiciones específicas del conducto radicular deben tomarse en cuenta a la hora de valorar las diferentes soluciones de irrigación.

2.3 Importancia de la irrigación

El éxito en el tratamiento de conductos se encuentra íntimamente asociado al control de la flora endodóntica (5)

Es imposible limpiar y conformar los conductos radiculares en su totalidad por la complejidad anatómica que éstos presentan (47).

Autores como Bystrom y Sundqvist demostraron que la instrumentación rotatoria reduce el número de bacterias sólo en un 50 % (48). Peters y cols. Comprobaron que la instrumentación mecánica deja aproximadamente del 35 al 40 % de las paredes del conducto radicular sin tocar (49) y estas áreas pueden albergar detritus, bacterias organizadas en biofilms así como sus productos de desecho, los cuales pueden impedir una buena adaptación del material de obturación y producir posteriormente una inflamación perirradicular (50). Además se ha demostrado que durante la obturación nunca se logra un sellado tridimensional total de la anatomía del conducto radicular, la cual, en caso de contener tejido infectado, aún con la presencia del material de obturación, no evitará el fracaso endodóntico (51)

Los irrigantes intraconducto aumentan la eliminación bacteriana y facilitan la remoción de tejido necrótico y partículas de dentina del conducto radicular, además, previenen el empaquetamiento de tejidos duros y blandos infectados en el área apical radicular e incluso a nivel periapical (4). Sin embargo, se ha demostrado que a pesar de del uso de estos agentes, las bacterias intraconducto pueden permanecer después de la preparación biomecánica (50, 52)

Por tanto, la reducción de la infección del sistema de conductos se produce en la fase de limpieza y conformación de dicho sistema (Cleaning and Shaping). Esta fase podría resumirse en que las limas remueven el contenido del interior del conducto y lo conforman para su posterior obturación tridimensional. Al mismo tiempo, una sustancia o combinación de varias (el irrigante) actúa desinfectando las zonas colonizadas. Esta acción se produce no sólo en el interior del conducto principal, acompañando a las limas, sino en zonas más alejadas, como conductos laterales, istmos, deltas apicales, etc. donde no pueden llegar las limas, siendo el irrigante, por su naturaleza líquida, el único que puede contactar con dichas zonas (53)

Aunque, en general, antes, se daba más importancia en la fase de instrumentación a las limas, hoy, cuando se habla exclusivamente de tratamiento de la infección endodóntica, se da más importancia al irrigante que a las limas.

Los instrumentos, además de dar forma y tamaño al conducto radicular, también abren el camino al irrigante. Éste es el verdadero encargado de limpiar y desinfectar. Limpia en zonas “macroscópicas”, como conducto principal, conducto laterales, istmos, deltas apicales, perforaciones, etc. Pero, sobre todo es el único que puede limpiar las zonas “microscópicas”, como es el interior de los tubulillos dentinarios, donde seguro no llegan las limas. (6, 12, 54-57)

Como consecuencia, varios irrigantes químicos han sido empleados a lo largo de los años para la desinfección del conducto radicular. (5, 6, 10, 11, 48, 58)

2.4 Características del irrigante ideal para endodoncia

Idealmente, los irrigantes deben:

- tener la capacidad de disolver tejido orgánico,
- ser antimicrobianos de amplio espectro,
- ser eficaces contra microorganismos anaerobios y facultativos organizados en biofilms,
- tener la capacidad de inactivar endotoxinas
- prevenir la formación de detritus y barrillo dentinario durante la instrumentación o disolverlo una vez formado (59, 60).
- No deben ser tóxicos para los tejidos periodontales y con poco potencial para causar una reacción anafiláctica;

Sin embargo, hasta el momento no existe un irrigante con todas esas propiedades.

Es por esta razón, que a través del tiempo se han utilizado diferentes tipos de sustancias, como: Hipoclorito de Sodio, soluciones en distintas concentraciones. Detergentes sintéticos: Tergentol, Duponol c al 2%, Zefirol, Dehyquart-A. Quelantes: EDTA (ácido etilendiaminotetraacético), REDTA (preparado quelante comercial), Salvizol, ácido cítrico, clorhexidina, hidróxido de calcio, agua oxigenada, peróxido de hidrógeno, suero fisiológico, agua destilada estéril, alcohol, cloroformo, MTAD (tetraciclina y ácido cítrico). Asociaciones: EDTAC (EDTA y cetrimida). RC-Prep. Endo PTC. Endoquel. Endo prepsen, etc, con el fin de aprovechar y/o combinar sus diferentes propiedades. (61)

Pero el principal problema que se presenta hoy en día, es que no hay un irrigante que por sí solo pueda eliminar la parte orgánica e inorgánica del barrillo dentinario resultante de la instrumentación de los conductos radiculares (62).

2.5 Soluciones irrigantes más utilizadas en endodoncia

2.5.1 Hipoclorito de sodio

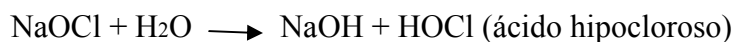
Es irrigante más utilizado en endodoncia. (63, 64)

Fue introducido durante la Primera Guerra Mundial por un médico llamado Dakin que aconsejó esta solución al 0,5% y con pH de 9, para el lavado de heridas. (61).

Como irrigante radicular se recomendó desde 1936 por Walker. Grossman y Meiman que demostraron su habilidad química para disolver tejido pulpar necrótico y vital (65, 66)

Su fórmula química es NaOCl. (60, 63)

Para poder comprender cómo actúa en el conducto radicular, hay que pensar que cuando añadimos NaOCl al agua se produce la siguiente reacción:



Este ácido hipocloroso, en una solución acuosa, se disocia parcialmente en OCl^- (anión hipoclorito)



Se define la clorina “disponible” como la suma del ácido hipocloroso y del anión hipoclorito. Este concepto se puede definir como la capacidad de oxidación y se expresa en términos de clorina elemental.(67)

Dentro de este proceso de disociación es el ácido hipocloroso el que se considera la parte activa y responsable de la capacidad antibacteriana.

El ácido hipocloroso ejerce su efecto oxidando los grupos sulfhidrilos (mediante fosforilación oxidativa) de los sistemas enzimáticos de las bacterias, produciendo alteraciones en las reacciones metabólicas y, finalmente, la muerte de la bacteria.

Esto ocurre de la siguiente forma: el NaOCl oxida e hidroliza las proteínas celulares y, en cierto modo, hace que los fluidos salgan osmóticamente de las células debidas a su hipertonidad. Ya que el hipoclorito de sodio tiene un pH alcalino (entre 10,5 y 12,2), cuando contacta con las proteínas tisulares se forma nitrógeno, formaldehído y acetaldehído en un periodo corto de tiempo, lo que produce que las uniones peptídicas se rompan, provocando la disolución de las proteínas. Durante este proceso, la clorina reemplaza al hidrógeno de los grupos amino, lo que es fundamental en la eliminación bacteriana. Es por eso, que el hipoclorito, es muy tóxico para los tejidos vivos en concentraciones no diluidas. (68)

Si comparamos las capacidades del hipoclorito de sodio con el irrigante ideal ya citadas vemos que:

- Es bactericida (69). Es efectivo para eliminar microorganismos como *Enterococcus*, *Actinomyces* y *Cándida* (70), ya que se considera que, a altas concentraciones, tiene efecto fungicida.
- Es capaz de alterar el biofilm. (71)
- Tiene capacidad de neutralizar toxinas. (72)
- Tienen capacidad de disolver tejido orgánico, (73) , ya sea vital, necrótico o fijado. (11, 12, 57, 74-76) afectando tanto al tejido pulpar como al colágeno gracias a su potente acción proteolítica. (69, 70, 77). La capacidad de disolución del componente orgánico también se ve influida por la integridad estructural de los componentes del tejido pulpar. Si la pulpa está descompuesta, los restos de tejidos se disuelven rápidamente, aunque la acción antibacteriana asociada sí necesite más tiempo para ser efectiva. La pulpa vital necesita más tiempo para ser disuelta ya que, aunque teóricamente la acción antibacteriana no es necesaria, disolver un tejido sano y bien organizado conlleva más tiempo (78-81)
- Aporta un medio líquido que ayuda a eliminar las limallas y proporciona lubricación.
- Tiene una ligera capacidad blanqueadora.

Además, todas estas características positivas se pueden mejorar modificando factores como:

2.5.1.1 pH

Las soluciones de hipoclorito de sodio disponibles en el mercado tienen un pH básico, ya que se encuentran así en la naturaleza y es la forma más estable de almacenamiento.

Se sabe que si el pH de la solución se encuentra entre 4 y 7, donde predomina el ácido hipocloroso y si está por encima del pH 7,6, se encuentra en mayor cantidad el ion hipoclorito (59, 61)

Es por esto que se podría pensar que una forma de aumentar la eficacia del hipoclorito como agente antimicrobiano fuese disminuyendo su pH, pero una forma ácida de hipoclorito sería una forma más inestable.

Si por el contrario, se alcalinizara, sería más estable y se conseguiría una mayor eficacia al disolver el tejido blando, lo que haría disminuir el tiempo de trabajo del hipoclorito. (61). Pero el mayor inconveniente que nos encontraríamos entonces sería, que se vería afectado el componente inorgánico de la dentina, lo que podría afectar a sus características físicas. (82)

Además, hay que tener en cuenta que según el estudio de Camps y cols, aunque las soluciones clásicas de NaOCl alcalino pueden permanecer casi estables durante semanas o meses, incluso si se exponen a la luz solar, esta situación cambia si se prepara la solución alcalina tal y como ellos proponen (mezclar 1 volumen de NaOCl 10% y 3 volúmenes de HCl al 0.2 mol/L) ya que pasadas 5 horas desde la preparación el pH disminuye y la cantidad de clorina disponible es muy pobre. Esto hace pensar que la estabilidad de las soluciones alcalinas es dependiente del método en el que se consigan.

2.5.1.2 Concentración

Varios estudios muestran como la capacidad de disolución de tejido orgánico se produce de manera clínicamente eficaz entorno al 2%. Para conseguir desinfectar, las concentraciones clínicas comienzan a partir del 2% y suben hasta el 6%. (59, 60, 83-85)

Senia en 1971 muestra que la concentración de 5,25% es suficiente para eliminar tanto formas vegetativas como esporas, atacar biofilms y lograr la inactivación de los gram negativos. (86).

Al disminuir la concentración podemos ver una gran disminución de su capacidad de disolución de los tejidos. Según Harrison y cols (79) encontraron que una solución de 2,5 % solo tiene un tercio de la capacidad para disolver tejido orgánico del 5,25%.

También conviene señalar, que aumentar la concentración para hacerlo más potente, también hace que se aumente la tensión superficial, dificultando su distribución en el interior del conducto y, en la práctica, siendo menos capaz de alcanzar zonas complejas. Algunos autores, por tanto, recomiendan, que en vez de aumentar la concentración, se aumente la temperatura, se prolongue el tiempo de permanencia en conducto, irrigar frecuentemente o combinar con quelantes que tengan surfactantes (1, 87-90)

2.5.1.3 Temperatura

Varios estudios demuestran una mayor acción del hipoclorito, si se aumenta la temperatura, ya que conlleva una mayor remoción de tejido orgánico, por lo que recomiendan su calentamiento en casos de infección (80, 91, 92).

Se sabe, que se consigue más del doble de la capacidad bactericida del hipoclorito de sodio por cada 5 °C de aumento de temperatura en un rango de 5 a 60°C (93)

El aumento de temperatura que se lee en los distintos artículos va desde los 37°C a los 60°C. Cunningham y Joseph (94) concluyen que aumentar la temperatura hasta 37°C amplía su capacidad desinfectante y disminuye su tiempo de acción. Este

calentamiento aumenta la velocidad de disociación del ácido hipocloroso, por lo que su efecto, aunque más potente, es más corto en el tiempo. Para minimizar este efecto, los autores recomiendan no calentar más de 40°C o un recambio continuo del irrigante (59, 80, 91, 92, 94).

2.5.1.4 Tiempo de trabajo

Ya en 1943, Grossman y Reimann (95) recomendaban de 20 a 30 minutos de acción para concentraciones del 2,5% a temperatura ambiente.

El tiempo aproximado de trabajo en el interior del conducto antes de inactivarse es de 2 minutos, por lo que debe ser renovado frecuentemente para mantener una acción sostenida durante todo el tratamiento. Por tanto, es adecuado irrigar profusamente, al menos, entre lima y lima.

También se ha comprobado que se pueden utilizar de un modo igualmente eficaz concentraciones menores de hipoclorito de sodio, aumentando el tiempo total de irrigación, el volumen empleado o la temperatura (11, 79, 80, 96-98). El tiempo de permanencia necesario para cumplir su función en el interior del conducto depende de factores como concentración y temperatura.

2.5.1.5 Tensión Superficial

En general, la habilidad que presenta una solución de “mojar” depende de su tensión superficial, la cual se define como, una tensión sobre la superficie de un líquido en contacto con otra sustancia donde no se mezclan. Cuando la atracción intermolecular se destruye, la tensión superficial disminuye. Esto puede lograrse por medio del uso de calor o adición de un surfactante.

En 1982 Cunningham y cols investigaron el efecto del etanol para mejorar la capacidad de difusión del NaOCl en tubos capilares, el resultado fue que se redujo la tensión superficial del NaOCl y, de esta manera, mejoró significativamente la habilidad de difusión del irrigante *in vitro*. (99). Sin embargo, estos resultados no se pueden extrapolar a los conductos radiculares, debido a la complejidad anatómica que presentan (deltas apicales, itsmos angostos y conductos laterales) (100). Además la solución del irrigante debe estar en contacto íntimo con la pared dentinaria y esto depende de la habilidad de la solución para mojar la dentina (101, 102).

2.5.1.6 *Inconvenientes del hipoclorito de sodio*

Los mayores inconvenientes del hipoclorito son:

- La citotoxicidad sobre el tejido periapical
- Las reacciones de hipersensibilidad
- No es eficaz eliminando el barrillo dentinario
- Tiene mal olor y mal sabor
- Posibilidad de favorecer fisuras (103-105).
- Hay autores que señalan cierta capacidad del hipoclorito de sodio para deteriorar el instrumental endodóntico (106, 107)
- Capacidad para alterar la dentina. (63, 97)

Existen artículos en los cuales se demuestran los efectos negativos de su uso, en relación al módulo de elasticidad de la dentina. (77, 108)

Otros estudios advierten que la dentina tiene cierta capacidad para inhibir este irrigante, por lo que éste podría ser uno de los factores por el cual algunos estudios que emplean dientes para testar la eficacia del producto presentan peores resultados que otros. (109, 110)

2.5.2 Clorhexidina

La clorhexidina ha sido otro de los irrigantes clásicos empleados y surgió como alternativa a la citotoxicidad del hipoclorito de sodio.

Se trata de una molécula catiónica que realiza su función bactericida a nivel de la membrana citoplasmática y la pared celular, rompiéndolas y permitiendo la salida de algunos productos intrabacterianos al exterior y la coagulación de otros, hasta la muerte de la célula (60, 98, 111-115)

Características más importantes,

- Actividad antiinfecciosa,
- La sustantividad: Esta propiedad hace, que su función en endodoncia vaya desde el mero irrigante hasta su empleo como medicamento intraconducto entre citas, ya que puede permanecer activo en el conducto hasta 12 semanas (116-119).
- Presenta poca citotoxicidad,
- Mayor inconveniente: No presenta la capacidad de disolver el tejido orgánico del hipoclorito de sodio. (120). McDonnell y Russell (121) demostraron que incluso su eficacia disminuye ligeramente en presencia de materia orgánica.

Su capacidad antibacteriana es grande pero controvertida al compararse con el hipoclorito de sodio, aunque también ha demostrado más capacidad antibacteriana al ser calentada (116, 122-125)

En la mayoría de los estudios se obtienen mejores resultados antibacterianos con el hipoclorito de sodio, seguido de cerca por la clorhexidina. En la comparativa directa entre los dos productos, el hipoclorito de sodio suele presentar mejores resultados, quizá debido a la capacidad de disolver la materia orgánica. (6, 11, 64, 74, 105, 119, 126)

Distintos autores han estudiado la combinación de hipoclorito de sodio y clorhexidina para conseguir un efecto complementario. Sin embargo, otros lo desaconsejan, ya que la combinación de ambos produce un precipitado pardo-marrón adhesivo, el cloruro de clorhexidina. Este compuesto aumenta el pH y la capacidad

ionizante, por lo que sigue siendo un elemento con cierta capacidad desinfectante, pero por su propiedad adhesiva se puede fijar a la pared dentinaria, impidiendo la distribución correcta del irrigante y provocar una incorrecta adaptación del material de obturación a las paredes del conducto. Además, Basrani y cols (126) en su artículo de estudio de la combinación de ambos, señalan la formación de unas para-cloro-anilinas, que son compuestos de carácter tóxico y potencialmente carcinógeno en ratas y ratones. Estas dudas sobre la citotoxicidad de la combinación se publican también en otros estudios. (127-130).

2.5.3 Quelantes

Aunque el hipoclorito de sodio parezca ser el irrigante más deseable para usar de forma única, éste no puede disolver las partículas de dentina inorgánicas y así prevenir la formación de barrillo dentinario durante la instrumentación (131). Además, con frecuencia se encuentran calcificaciones que dificultan la preparación del sistema de conductos.

Agentes desmineralizantes como el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) (132) y ácido cítrico (133) son recomendados como coadyuvantes en la tratamiento de los conductos radiculares.

2.5.3.1 *Ácido Etilendiaminotetraacético (EDTA)*

El ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) fue introducido por Nygaard-Ostby (132) en 1957 como parte del tratamiento endodóntico con el objetivo de ayudar en la preparación de conductos estrechos y/o calcificados.

La quelación es un proceso definido como “un proceso fisicoquímico de captación de iones positivos multivalentes (calcio, cobre, plomo, mercurio, hierro, cromo) por ciertos cuerpos: agentes quelantes complexores, tales como los derivados del ácido etilendiaminotetraacético” (134)

En la literatura, su concentración más habitual es al 17% (1, 135) y puede presentarse como líquido o como pasta.

El EDTA puede formar complejos estables de calcio con el barrillo dentinario, detritus y con el calcio de las paredes del conducto.

Actúa reemplazando los iones calcio por iones sodio, lo que hacen que la dentina sea más soluble (136).

Se trata de un proceso auto limitado, porque al formar dichos complejos estables, se producen protones y el EDTA es sensible a la disminución del pH (70)

Aun así, la acción de este agente puede durar hasta cinco días, por tanto es necesario que se neutralice con NaOCl (136), ya que éste se trata de un agente básico.

El efecto quelante depende de la amplitud del conducto y de la cantidad de sustancia activa existente durante la duración del proceso de desmineralización que perdurará hasta que todas las moléculas del EDTA hayan creado complejos cálcicos

Se emplea con el objetivo de ayudar al ensanche de los conductos radiculares, eliminar barrillo dentinario y preparar las paredes dentinarias y así conseguir una mejor adhesión de los materiales de relleno. (15).

No se conoce con total certeza el tiempo ideal para la su utilización. En la literatura encontramos tiempos entre 1 y 5 minutos, (96) aunque se establece que un tiempo de 3 minutos de EDTA al 17% debería ser suficiente para eliminar toda la parte inorgánica del barrillo dentinario (137)

Características positivas:

- Al formar complejos con el calcio del barrillo y detritus, favorece la limpieza del conducto
- Como arrastra barrillo, permite localizar conductos.
- En la presentación tipo pasta ayuda a lubricar las limas (esto puede ser debido a los componentes con los que se combina)
- Al igual que el hipoclorito, en su forma líquida, aporta un medio líquido que ayuda a eliminar limallas.

- Puede ayudar a que los biofilms ligados a la pared del conducto se separen de ésta, produciendo una reducción de la carga microbiológica si lo comparamos con una solución salina, a pesar de tener una capacidad antiséptica limitada (59)
- Es biocompatible

Por el contrario como inconvenientes señalaremos:

- Sus capacidades antisépticas son limitadas.
- No disuelve tejido orgánico.
- Produce desmineralización de tejidos duros, por lo que puede tener como consecuencia cambios profundos en la estructura dentinaria.

Por todo lo expuesto, el EDTA tampoco es el irrigante ideal, de tal manera que se debe pensar en una combinación de NaOCl + EDTA, así se conseguirán grandes beneficios en el tratamiento de conductos.

2.5.4 Combinación de irrigantes

Para obtener los beneficios que aportan el NaOCl y el EDTA, es interesante combinar los dos ya que entre sí compensan las carencias de uno y otro.

El hipoclorito de sodio y el EDTA interaccionan entre ellos, disminuyendo considerablemente la clorina disponible en la disolución, por lo que el NaOCl se vuelve inactivo frente a bacterias y tejido necrótico (87). Por esta razón, no se deben utilizar de manera simultánea.

Hay que considerar en qué orden deben emplearse los irrigantes, ya que, por ejemplo, aunque sea importante la eliminación del barrillo dentinario para la limpieza de los conductos radiculares, si hacemos el último lavado con EDTA podría no eliminarse de forma correcta la parte orgánica de ese barrillo. Además tratándose de un ácido, su acción se podría mantener por un tiempo indeterminado sin poder controlar su duración.

Niu y cols demostraron que el EDTA al 15% seguido de NaOCl al 6% elimina más detritus que el EDTA por sí mismo, a pesar de que produce una alteración de la erosión dentinaria

Además Yamada y cols indican que la mejor manera de eliminar el barrillo dentinario es un penúltimo lavado con 10 ml de EDTA al 17% seguido de uno de NaOCl al 5,25% (96)

Aunque es cierto que el empleo de estos dos compuestos de forma combinada aportan la mejor situación en cuanto eliminación de barrillo y disminución de carga microbiológica, hay que tener en cuenta que autores como Sayin en 2007 nos advierten de que el uso de EDTA solo o previamente al NaOCl suponen la máxima disminución de microdureza en la dentina en comparación con otras sustancias.(1)

Esto puede ser debido a que, tal y como muestran (15) algunos investigadores, la combinación de EDTA + NaOCl como irrigación final o de NaOCl por sí mismo cambian el ratio calcio/fósforo de forma significativa en la dentina radicular. Además, se incrementa de manera significativa el nivel de magnesio con el uso de la combinación quelante/hipoclorito. Concluyen que el empleo de NaOCl como irrigación final altera la efectividad de los agentes quelantes.

Teniendo en cuenta todo esto y a pesar de que esta unión produzca mejores resultados, al fijarse en la eliminación de barrillo, tejido pulpar necrótico y las bacterias, no se deben olvidarse los efectos negativos que conlleva la utilización de esta combinación de líquidos irrigantes

2.6 Régimen sugerido de irrigación

Como se ha indicado previamente, deben ser administrados de tal manera que puedan emplear todo su potencial sobre sus objetivos. De ahí que el hipoclorito de sodio debería ser empleado en todas las fases de la instrumentación sin alternarlo con EDTA o ácido cítrico. Los conductos deberán estar siempre llenos de hipoclorito de sodio, de esta forma aumentará el tiempo de funcionamiento del irrigante.

2.6.1 Propuesta de irrigación:

- Se recomienda irrigar continuamente durante todo el procedimiento.
- Se debe mantener la cámara pulpar siempre llena de irrigante.
- Se recomienda irrigar con volúmenes grandes, 2 a 5 ml por conducto entre cada instrumento
- Para la irrigación final se recomienda un volumen de 10 ml de hipoclorito de sodio por conducto (activándolo también ultrasónicamente), seguido de una irrigación con EDTA (5-10 ml) durante 1-3 minutos y finalmente una irrigación final con otros 10 ml de hipoclorito de sodio (138)
- Al final se puede realizar una última irrigación con alcohol al 95 % para asegurarnos que el conducto se queda seco (139). En los casos de necrosis o bien en retratamientos, se puede emplear clorhexidina (5-10 ml por conducto) debido a su sustantividad. Y siempre debemos realizar un lavado previo del conducto con una sustancia inerte (solución salina) para evitar la formación del precipitado clorhexidina-hipoclorito de sodio.

2.7 Nuevos Irrigantes

Algunos estudios se centran en el Ozono y sus propiedades antibacterianas. Este producto es un potente oxidante que se ha utilizado en Medicina para descontaminar estancias de hospitales y tratar infecciones muy agresivas (140, 141). En Odontología, además de para tratamiento de conductos, se ha aplicado en Cirugía, Implantología y Adhesión (25, 142, 143).

El ozono en estado gaseoso carece de acción antibacteriana, sin embargo al enriquecer una solución acuosa con ozono, se potencia su capacidad antimicrobiana, probada ante bacterias, hongos, protozoos y virus. Su poder oxidante destruye la pared celular y la membrana citoplasmática, produciendo incremento de la permeabilidad celular, desequilibrio osmótico, penetración de moléculas de ozono y, finalmente, muerte celular. Nagayoshi y cols (144) estudiaron la capacidad antimicrobiana de una solución de agua enriquecida con ozono sobre diversas estirpes bacterianas y lo compararon con hipoclorito de sodio al 2,5% activado con ultrasonidos, concluyendo que la actividad antimicrobiana de ambos era similar y que el daño a las células periapicales era mínimo.

Hems y cols (145) estudiaron el poder bacteriano del ozono sobre bacterias de *E. faecalis* en comparación con el hipoclorito de sodio al 0,5 %, concluyendo que el ozono era capaz de eliminarlas, efectividad similar a la del hipoclorito de sodio para bacterias en suspensión. Sin embargo, en estos estudios sobre biofilms, su efectividad disminuye considerablemente respecto a la del hipoclorito de sodio. Estos autores llaman la atención sobre los inconvenientes del empleo del ozono tales como dolores de cabeza y sequedad de las fosas nasales, cuando se emplea a bajas concentraciones. A altas concentraciones, puede provocar hemorragias, visión borrosa, edema, congestión y pérdida transitoria de la capacidad pulmonar, por lo que su uso rutinario en clínica parece lejano aún.

Hay que tener presente un dato novedoso proveniente del estudio de Edgar y cols. (146) Estos investigadores comprobaron in vitro que el empleo de cloroformo en los retratamientos no solo beneficiaba la retirada de la gutapercha remanente sino que, además, reducía significativamente los niveles de *E. f.* Aunque no se trate estrictamente

de un irrigante, se emplea en forma líquida como ayuda a los retratamientos, y no deja de ser llamativo el hecho de que pueda ser, además, un agente desinfectante.

También se ha propuesto la utilización de infusiones de plantas, sobre todo de Camomila y Té, como irrigantes del sistema de conductos gracias a sus efectos antimicrobianos, antiinflamatorios y calmantes. Sadr Lahijani y cols. Realiza un estudio con estos productos para evaluar la capacidad de limpieza en comparación con hipoclorito de sodio y la asociación con hipoclorito y EDTA. En sus resultados observan que la infusión obtiene los peores resultados y concluyen que quizá sea debido a su elevada tensión superficial, lo que dificulta su difusión.

En la actualidad, existen numerosas líneas de investigación con otros productos. Dentro de este grupo se podrían encuadrar las asociaciones de productos antiinfección. Estos preparados asocian un antibiótico bacteriostático de tipo tetraciclina (doxiciclina), un quelante (ácido cítrico) y un detergente. La eficacia de estos preparados no queda clara, con estudios a favor y en contra. Algunos autores creen que su acción desinfectante proviene de la recomendación de los diseñadores del producto de aplicar previamente hipoclorito de sodio.(84, 147-150). Además Tay y cols comprueban que el hipoclorito de sodio y la doxiciclina reaccionan generando un precipitado marrón que puede teñir, aunque este efecto se puede contrarrestar por la adición de ácido ascórbico.

Otros irrigantes de reciente estudio son el agua activada electroquímicamente o ECA(151), ácido láctico (152), Carisolv (153) y el Hidroxi-Etilen-Bisfosfonato ó HEBP(87). En general, los resultados, tanto en estudios clínicos como de laboratorio, no parecen muy prometedores, aunque el número de dichos estudios es escaso y son necesarias aún más investigaciones para comprobar o desestimar su verdadera eficacia.

2.8 Técnicas de irrigación endodóntica

Es de suma importancia lograr que los irrigantes alcancen el tercio apical radicular de manera rápida y suficiente, ya que en este tercio se encuentra la mayor cantidad de ramificaciones, principalmente en molares posteriores, los cuales presentan el 75% de las ramificaciones en el tercio apical, el 11% en tercio medio y el 15% en tercio coronal (154). Estas ramificaciones representan vías potenciales para que, a través de ellas las bacterias y sus productos provenientes de un conducto necrótico alcancen y dañen el ligamento periodontal (51)

A continuación se presenta un esquema con la división actual de los diversos sistemas de irrigación, así como una descripción de las técnicas que tienen como objetivo mejorar la irrigación de los conductos radiculares principalmente en el área apical (155).

Sistemas de entrega y agitación de los irrigantes:

- Sistemas de agitación manuales:
 - ✓ Irrigación pasiva: Jeringa de irrigación convencional con aguja.
 - ✓ Cepillos
 - ✓ Irrigación Dinámica
 - ✓ Lima de patency
- Sistemas de agitación ayudado por máquinas
 - ✓ Cepillos
 - ✓ Irrigación continua durante la instrumentación
 - ✓ Irrigación Sónica
 - ✓ Irrigación Ultrasónica
 - ✓ Dispositivos de alteración de presión:
 - Sistema EndoVac
 - ✓ Sistema Rins Endo

2.8.1 Técnicas de agitación manual

2.8.1.1 Irrigación manual, jeringa de irrigación con aguja/cánula, irrigación por presión positiva

La irrigación convencional con jeringa ha sido utilizada como un método de irrigación eficiente, antes de la introducción de la activación pasiva ultrasónica (156)

Esta técnica todavía es ampliamente aceptada por los odontólogos generales y endodoncistas. (157)

La técnica consiste en la entrega del irrigante pasivamente o con agitación en el interior del conducto radicular a través de una aguja/cánula de medida y diámetro variable.

Esta cánula, se emplea realizando movimientos de arriba-abajo dentro del conducto.

Algunas de ellas, están diseñadas para dispensar el irrigante por su parte más distal, mientras que otras, lo expulsan lateralmente. (157)

Este último diseño ha sido propuesto para mejorar la activación hidrodinámica del irrigante y reducir la probabilidad de extrusión apical (158).

Es crucial que la aguja permanezca floja dentro del conducto durante la irrigación. Esto permite al irrigante refluir y limpiar el conducto al salir coronalmente.

Una de las ventajas de la irrigación con jeringa es que permite de una forma relativamente sencilla el control de la profundidad de la aguja dentro del conducto y el volumen de irrigante que se introduce en el conducto (156)

Sin embargo, la acción de limpieza con la aguja convencional es relativamente débil. Algunas zonas e irregularidades del sistema de conductos pueden albergar restos de tejido y bacterias, dificultando de esta forma la limpieza del conducto (8, 50, 159).

Además la profundidad de penetración del irrigante y su capacidad para desinfectar túbulos dentinarios es limitada. (160)

Por otro lado, Ram demostró que cuando empleamos una jeringa con aguja convencional, la solución irrigadora es llevada sólo un milímetro más allá de la punta de la misma (160). Esta publicación es inquietante ya que la mayoría de los clínicos no suelen llevar la aguja más allá del tercio medio (161).

Las agujas de irrigación con un diámetro más pequeño pueden alcanzar zonas más profundas y reemplazar de manera más eficaz el irrigante, al mismo tiempo que limpian mejor el sistema de conductos (13, 156, 160). Sin embargo, cuanto más cercana esté la punta de la aguja al ápice, las probabilidades de extrusión apical van a ser mayores (160, 162).

O'Connell evaluó la eficacia de 3 tipos de sales de EDTA e Hipoclorito de sodio, empleando alternativamente una jeringa Monoject 27 de diámetro. Se demostró que la capacidad de limpieza de las soluciones eran adecuadas en el tercio coronal y medio pero eran menos efectivas en el tercio apical (62) Incluso después de una irrigación con EDTA e Hipoclorito de sodio con aguja de salida lateral o apical colocadas a 1 mm de la longitud de trabajo, una abundante cantidad de barrillo dentinario permaneció en la región apical de los conductos radiculares (96, 163).

Una entrega del irrigante de forma lenta puede minimizar los accidentes por NaOCl. Con un empleo cuidadoso, las ventajas de una irrigación intraconducto profunda deberían sopesar más que sus riesgos (80).

La cantidad y el cambio del irrigante deberían ser considerados como factores influyentes en el flujo más allá de la cánula (164). Sin embargo, es difícil estandarizar y controlar el caudal de fluido durante la irrigación con jeringa (164). Sería ventajoso desarrollar nuevos sistemas que incrementasen la penetración del mismo en los túbulos dentinarios. Esto aseguraría una limpieza más cuidadosa de los conductos, reduciendo la posibilidad de extrusión al periápice (165, 166)

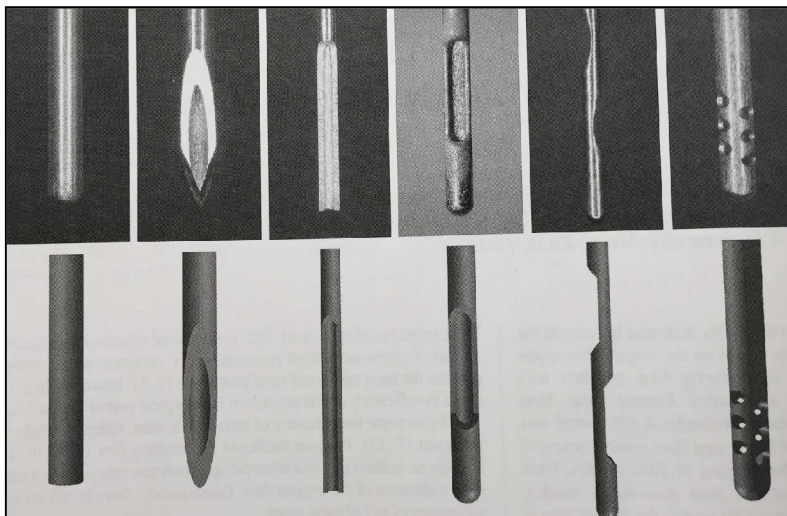


Fig. 1- Jeringas comercializadas de diámetro 30. (A-C) Final abierto: (A) flat (NaviTip; Ultradent, South Jordan, UT), (B) beveled (PrecisionGlide Needle; Becton Dickinson & Co, Franklin Lakes, NJ) y (C) notched (AppliVac Irrigating Needle Tip; Vista Dental, Racine, WI). (D_F) Final cerrado (Close-ended needles): (D) salida lateral (side-vented) (KerrHawe Irrigation Probe; KerrHawe SA, Bioggio, Switzerland), (E) doble salida lateral (double side-vented) (Endo –Irrigation Needle; Transcodent, Neumunster, Germany), y (F) multiples salidas (multi-vented) (EndoVac Microcánula; Discus Denta, Culver City, CA). Imagen de Shinam Kapila Pasricha, Sameer Makkar, Pranav Gupta

2.8.1.2 Cepillos

Estrictamente los cepillos no son usados directamente para la entrega del irrigante en el conducto radicular.

Éstos trabajan conjuntamente con el irrigante para limpiar las paredes del conducto. Recientemente, fue recubierta con un cepillo una aguja de diámetro 30 (NaviTip Fx; Ultradent Products Inc, South Jordan, UT). Un estudio relató la limpieza mejorada del tercio coronal de un conducto instrumentado y posteriormente irrigado y

agitado con NaviTip FX (167). Sin embargo, las diferencias en el tercio apical y medio no eran estadísticamente significativas.



Fig. 2. Navitip FX Ultradent. Imagen de la casa comercial Ultradent

A principios de los 90, se llegaron a conclusiones similares con el empleo de cepillos estudiados por Keir (168). Ellos usaron el Endobrush en un movimiento activo y en rotación.

El Endobrush (C&S Microinstruments Ltd, Markham, Ontario, Canada) es un cepillo en espiral, diseñado para el empleo en endodoncia que consiste en un juego de cerdas de nailon en cables torcidos y que tiene un diámetro relativamente constante a lo largo de su longitud. La limpieza con el Endobrush era considerablemente mejor que instrumentar solamente el conducto. Sin embargo, el Endobrush no podía ser usado a longitud de trabajo ya que podría llevar al acumulo de restos en la zona apical después del cepillado. (168)

2.8.1.3 Irrigación manual dinámica

Varios investigadores han demostrado que el uso de un cono de gutapercha bien adaptado al conducto radicular instrumentado, realizando un movimiento aproximadamente 2 mm hacia dentro y fuera del conducto, pueden producir un efecto

hidrodinámico y mejorar el desplazamiento de los irrigantes hacia apical, comparándolo con la irrigación estática o pasiva (169, 170).

Su eficacia se puede explicar de varias maneras: el cono de gutapercha adaptado bien al conducto genera diferentes grados de presión, provocando así un reparto mejor del irrigante hacia zonas que no han sido tocadas (171)

La frecuencia del movimiento de entrada y salida de la punta de gutapercha es de 3,3 Hz, 100 movimientos en 30 segundos, por lo que se considera una frecuencia alta, generando grandes turbulencias intraconducto. (169, 170).

La irrigación manual dinámica, se considera un método simple y eficiente a muy bajo coste.

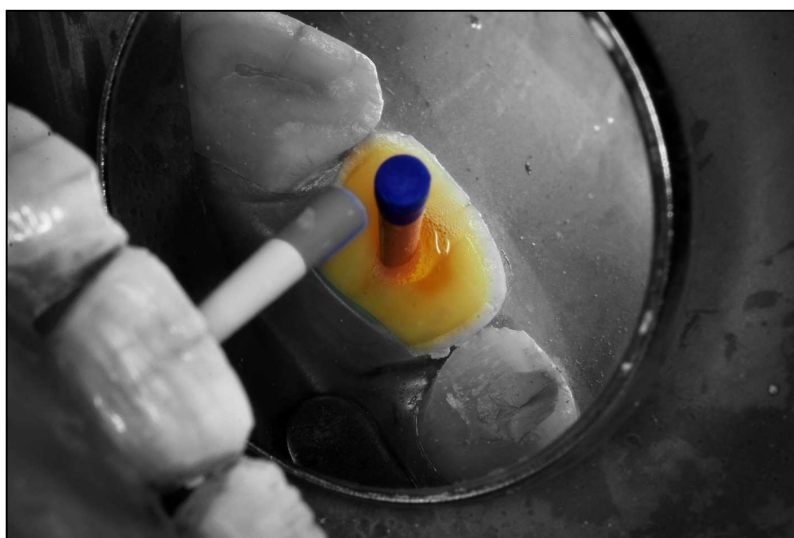


Fig. 3 Irrigación manual dinámica: Se realizan movimientos en sentido corono-apical

2.8.1.4 Lima de patency

Para tener una acción efectiva, el irrigante debe permanecer en contacto con la superficie radicular, lo cual resulta complicado cuando se trata del tercio apical, debido a la formación, en ocasiones, de una burbuja de vapor, formada por la mezcla de amonio y dióxido de carbono, proveniente del contacto del hipoclorito de sodio con material orgánico del conducto radicular (172)

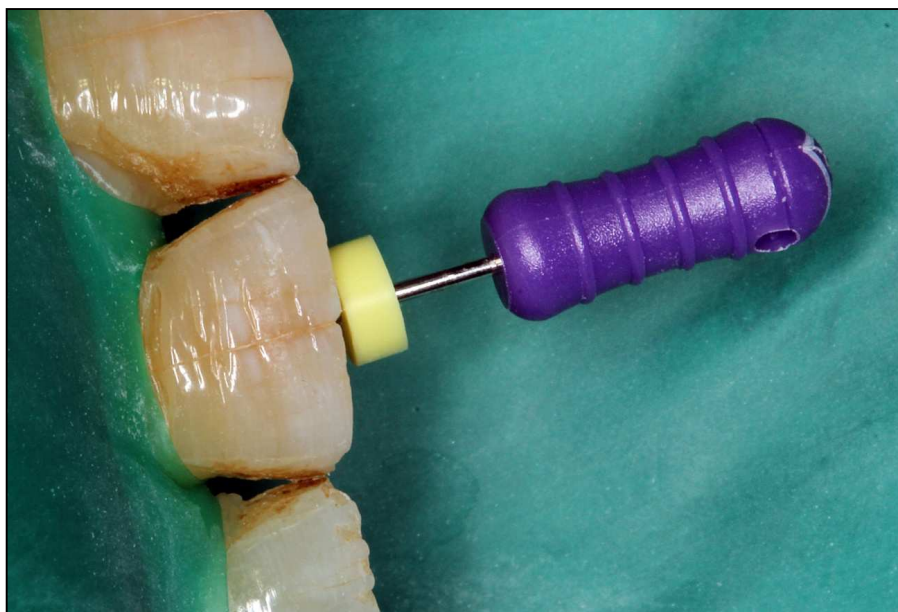


Fig. 4 Lima de patency. El instrumento se lleva 1 mm más allá de la longitud de trabajo sin modificar la anatomía del foramen

Para conseguir que el irrigante alcanzará el tercio apical se dio una alternativa: la utilización de la técnica “lima de patency”, la cual consiste en utilizar una lima de bajo calibre, flexible, que se moverá de forma pasiva a través del foramen apical sin agrandar su constricción.

El instrumento se lleva 1 mm más allá de la longitud de trabajo permitiendo una mejor limpieza y aumentando la penetración del irrigante a esa zona (173).

Aunque su uso sigue siendo un tema de controversia, hay estudios que demuestran que el uso de la lima de patency no produce un aumento en el grado o duración de dolor postendodóntico (174), y que, realizado mediante el uso de limas # 08 y 10, no produce transporte del conducto radicular a nivel apical y/o foramen (175)

2.8.2 Sistema de agitación ayudado por máquinas:

2.8.2.1 Cepillos rotatorios

Se trata de una pieza de mano rotatoria a la que se añadió un cepillo (endodontic microbrush). Fue usada por Ruddle para facilitar la eliminación de tejido orgánico así como del barrillo dentinario de los conductos radiculares instrumentados.

Presenta múltiples cerdas que se extienden radialmente a un eje central. Durante la fase de limpieza el micro-cepillo gira aproximadamente a 300 revoluciones por minuto, haciendo que las cerdas se deformen en las irregularidades de la preparación. Esto ayuda a desplazar los desechos residuales hacia afuera del conducto, en dirección coronal. Sin embargo, este producto no ha llegado a ser comercializado.



Fig. 5. Endodontic microbrush. Imagen de www.personal.us.es

El CanalBrush (Coltene Whalendent, Langenau, Alemania) es un micro-cepillo endodóntico que sí se ha comercializado.

Es un micro-cepillo sumamente flexible, de polipropileno y puede ser usado a mano o con acción rotatoria. Sin embargo es más eficaz cuando se conecta a un contra-ángulo a 600 revoluciones por minuto. Una investigación de Weise y cols (176) se demostró que el empleo del CanalBrush con un irrigante, eliminaba los restos de tejido

de forma efectiva de los conductos laterales simulados y de las irregularidades del sistema.



Fig. 6. CanalBrush. Imagen de www.coltenewhaledent.bj.cn

2.8.2.2 Irrigación continua durante la instrumentación rotatoria

El sistema de irrigación Quantec-E (SybronEndo, Orange, CA) es una unidad independiente de entrega del irrigante que está conectada al sistema Quantec-E Endo. Emplea una bomba, un depósito de irrigación, y una tubería que proporciona la irrigación continua durante la instrumentación rotatoria (177) Idealmente, la agitación continua del irrigante durante la instrumentación rotatoria activa puede generar un incremento del volumen del irrigante, así como el tiempo de contacto entre el conducto y el propio irrigante. Esto debería provocar una limpieza más eficaz que la jeringa tradicional de irrigación, sin embargo estas conjeturas no fueron apoyadas por el trabajo de Setlock y cols (178). Compararon la irrigación con Quantec-E con la irrigación pasiva tradicional. La irrigación de Quantec-E resultó que limpiaba mejor el barrillo dentinario del tercio coronal del conducto. Sin embargo, estas ventajas no se observaron en el tercio medio y apical del conducto (178). Esto también fue confirmado por Walters (177), quien encontró que no había ninguna diferencia significativa entre la irrigación con jeringa y la bomba Quantec-E

2.8.2.3 *Irrigación Sónica*

2.8.2.3.1 Frecuencia y oscilación del instrumento sónico

En 1985 Tronstad y cols (179) fueron los primeros en publicar el uso de un instrumento sónico para endodoncia.

La activación sónica opera a una frecuencia baja (1-6 kHz) (180)

El movimiento oscilante es puramente longitudinal, es decir, la energía sónica genera una amplitud en sentido antero-posterior en la punta.

Este tipo de vibración ha demostrado ser particularmente eficiente en la limpieza del conducto radicular, ya que produce una gran amplitud de desplazamiento del irrigante (181)

2.8.2.3.2 Efecto de la irrigación sónica:

En la literatura, se encuentran numerosos artículos en los que se demuestra que la irrigación sónica es un método efectivo para la desinfección de los conductos radiculares, como son: Pitt y cols (182), Tronstad y cols (179), Barnett y cols (183), Stamos y cols (184), Reynolds y cols (185), Pugh y cols (186), Walker y cols (187), Jensen y cols (188), Sabins y cols (189), Ruddle y cols (190).

De manera convencional, la irrigación sónica fue realizada empleando un Rispisonic conectado a una pieza de mano MM 1500 (Medidenta International, Inc, Woodside, NY) después de la preparación del conducto. Sin embargo, las limas Rispisonic no tienen una conicidad uniforme, presentan una especie de púas, por lo que podrían contactar con la pared del conducto dañando la preparación del mismo. Por estos motivos, este instrumento no llegó a emplearse comercialmente para este fin.

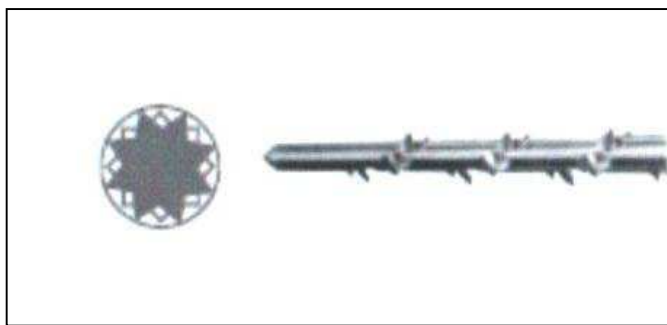


Fig. 7. Rispisonic: Detalle de sección y espiras laterales. Imagen de la casa Micro Mega

2.8.2.3.3 EndoActivator®

El EndoActivator System® (Dentsply Tulsa Dental Specialities, Tulsa, OK) es el instrumento sónico más reciente (191).

Consiste en una pieza de mano inalámbrica y 3 tipos de puntas desechables de polímero de diferentes tamaños.

Las puntas están diseñadas para ser fuertes, flexibles y no romperse fácilmente. Tienen una superficie suave y lisa por lo que no cortan la dentina.

El sistema EndoActivator®, es capaz de limpiar de forma efectiva los restos de conductos laterales, eliminar barrillo dentinario y desligar los biofilms en los conductos curvos de los molares (192).

Durante su uso, la acción de la punta del EndoActivator® con frecuencia produce una nube de restos de tejido que pueden ser observados en la cámara pulpar.

La punta vibradora en combinación con el movimiento hacia dentro y hacia afuera del conducto radicular, produce un poderoso fenómeno hidrodinámico (193). En general, fueron mostrados 10.000 ciclos por minuto para optimizar la limpieza y desligar el barrillo dentinario y los biofilms de las paredes del conducto (192).

Ventajas del EndoActivator®

- Su seguridad.

Desai (194) en un estudio en el que analizaron la extrusión del irrigante por diversos mecanismos de agitación, demostraron que el EndoActivator® producía menos extrusión que la irrigación ultrasónica, la irrigación con jeringa convencional y el RinsEndo.

- Disminución de la carga bacteriana (aunque existe controversia en la literatura), comparado con la irrigación de hipoclorito sin agitar (7). Sin embargo, este aspecto no está demostrado, ya que en un estudio previo se comparó la eficacia de reducción bacteriana entre el EndoActivator®, el EndoVac y la irrigación convencional y no encontraron diferencias estadísticamente significativas (195)

Una posible desventaja podría ser que las puntas son radiolúcidas. Aunque fueron diseñadas para no romperse fácilmente durante su uso, sería muy difícil identificarlas si se rompiesen dentro del conducto. Estas puntas se podrían mejorar si se incorporase una sustancia radioopaca en el polímero.



Imagen 8: EndoActivator®



Imagen 9: Puntas de EndoActivator®

2.8.2.4 Ultrasonidos

Los dispositivos ultrasónicos fueron ampliamente utilizados en periodoncia antes de que Richman (196) los introdujera a la endodoncia en 1957.

En 1980 fue diseñada por Martin y cols (197) una unidad ultrasónica comercialmente disponible para uso endodóntico.

Comparada con la energía sónica, la energía ultrasónica produce frecuencias altas pero amplitudes bajas (181).

Las limas fueron diseñadas para oscilar a frecuencias entre 25-30 kHz, que están más allá del límite de la percepción auditiva humana (> 20 kHz).

Su forma de operar es en una oscilación transversa, creando un patrón característico de nodos y antinodos en toda su longitud. (19, 181)

Existen una gran cantidad de literatura sobre la irrigación ultrasónica, algunos artículos representativos son: Gutarts y cols (21), Cunningham y cols (17), Van der Sluis (156) y los, Alacam y cols (198), Cameron y cols, (180, 199) Ahmad y cols, (180) Reynolds y cols, (185) Jesen y cols, (188) Sabins y cols, (189) Lee y cols, (169)

Gulabivala y cols, (200) Van der Sluis y cols, (201) Passarinho-Neto y cols, (20) Carver y cols,(202) Munley y cols, (203) Burleson y cols, (204) Ferreira y cols (205).

Se han descrito tres tipos de irrigación ultrasónica:

- Un primer tipo: la combinación de instrumentación e irrigación de forma simultánea. (IU).
- El segundo tipo: funciona sin una instrumentación simultánea. Se denomina, irrigación pasiva ultrasónica (IUP).
- Un tercer tipo: El irrigante se dispensa de forma continua mientras se agita. Se denomina irrigación ultrasónica continua (IUC).

Estudios que emplean **irrigación ultrasónica (IU)** presentan unos conductos significativamente más limpios que los preparados convencionalmente (17, 197, 206-208). Sin embargo, otros estudios no han demostrado la superioridad de la irrigación ultrasónica (IU) como técnica de limpieza y conformación (180, 185, 209) Estos resultados podrían ser atribuidos a la disminución del movimiento vibratorio dentro de una raíz con un espacio insuficiente (190). Además, según Lumley y cols y Walmsley y cols es frecuente encontrar perforaciones y preparaciones irregulares (210, 211)

Por lo tanto, IU no es generalmente empleada como una alternativa a la instrumentación (212, 213).

Por el contrario, la literatura endodóntica nos muestra que es más ventajoso aplicar el ultrasonidos después de la preparación completa del conducto radicular (59). Todo esto se abordará como **irrigación pasiva ultrasónica (IUP)**.

El término irrigación ultrasónica pasiva (IUP) fue empleado por primera vez por Weller (209) para describir un mecanismo de irrigación en el que no había ninguna instrumentación o contacto entre las paredes del conducto con un instrumento o punta endodóntica (188). Con esta tecnología no cortante, el potencial para crear aberraciones en el conducto fue reducido.

Durante la irrigación ultrasónica pasiva (IUP): la energía es transmitida de una punta oscilante o lima a una frecuencia de unos 30 kHz y con una intensidad que dependerá de la generada por el aparato. La energía que se transmite de la lima que

oscila de manera ultrasónica al irrigante está condicionada por la frecuencia y por la intensidad, aunque exactamente no se sabe cómo se produce. (180).

Para explicar el mecanismo de acción de IUP tenemos que tener en cuenta dos factores:

- La corriente acústica: Es un movimiento rápido de fluido que se produce de manera circular o como un vértice alrededor de la lima en vibración. (214)

La intensidad de esa corriente está directamente relacionada con la velocidad del flujo. Se puede decir que cuanto más fina sea la lima, mayor será la velocidad del flujo que se produce, pero esto no sigue un patrón lineal.

El movimiento producido por esta corriente acústica produce estrés en las paredes del conducto y de esta manera se pueden remover restos orgánicos o inorgánicos y bacterias de la misma. (180)

- Cavitación: Con este término nos referimos a la cavitación acústica, es decir, creación de nuevas burbujas o expansión, contracción y/o distorsión de las burbujas ya existentes en un líquido gracias a una energía acústica.

Cuando aplicamos una agitación sónica o ultrasónica a un líquido, como pueden ser los irrigantes endodónticos, se producen burbujas de cavitación que pueden existir en forma inercial o no inercial. Las no inerciales experimentan una pulsación lineal tras ser expuestas a una vibración de baja amplitud. Las inerciales experimentan pulsaciones de alta energía y colapsan, generando olas capaces de romper biofilms y matar directamente a las bacterias.

Los sistemas ultrasónicos generan, predominantemente, pequeñas burbujas no cavitantes que causan micro-corrientes y producen estrés de corte en la pared del conducto (215)

Métodos de aplicación del irrigante durante IUP.

En la irrigación ultrasónica pasiva (IUP) existen dos métodos de aplicación del irrigante

- Intermitente empleando una jeringa (216). En la irrigación intermitente, el irrigante es inyectado en el conducto radicular, varias veces, después de cada ciclo de activación ultrasónico. Conocemos la cantidad de irrigante que fluye por la región apical del conducto, pudiendo ser controlado, ya que conocemos tanto la profundidad de penetración de la jeringa, como el volumen de irrigante administrado.
- Continua: En el régimen de irrigación continua podemos también controlar el volumen de irrigante, pero no de una forma tan exacta la profundidad de penetración del irrigante.

Ambos métodos de limpieza han mostrado ser eficaces en la eliminación de detritus del conducto. (156)

El cloro, que es responsable de la disolución de los tejidos orgánicos y que posee las propiedades antibacterianas (59), es inestable y se consume rápidamente durante la primera fase de la disolución de tejido pulpar, probablemente en unos 2 minutos (217). Por tanto, es deseable considerar, un sistema de entrega que sea capaz de reponer continuamente el irrigante en el conducto. Nusstein ha desarrollado un adaptador que sostiene una aguja ultrasónica (169), de tal forma que éste puede llevar apicalmente un flujo continuo de irrigante, en vez de forma intermitente.

El empleo de esta tecnología de irrigación continua para la irrigación final después de la instrumentación fue estudiada in vitro.

Los datos de estos estudios demostraron que un minuto de irrigación continua ultrasónica producía una limpieza significativamente mayor en conductos e istmos de dientes vitales y necróticos. (21, 204). Este sistema también causó una reducción considerable en la cantidad de unidades formadoras de colonias (CFU) en molares humanos necróticos (202). Estos resultados positivos podrían ser atribuidos a la llegada

continua de irrigante dentro del conducto. Además esta técnica también causó una reducción del tiempo requerido para la irrigación ultrasónica. (218)



Imagen 10: Ultrasonidos Acteon Satelec

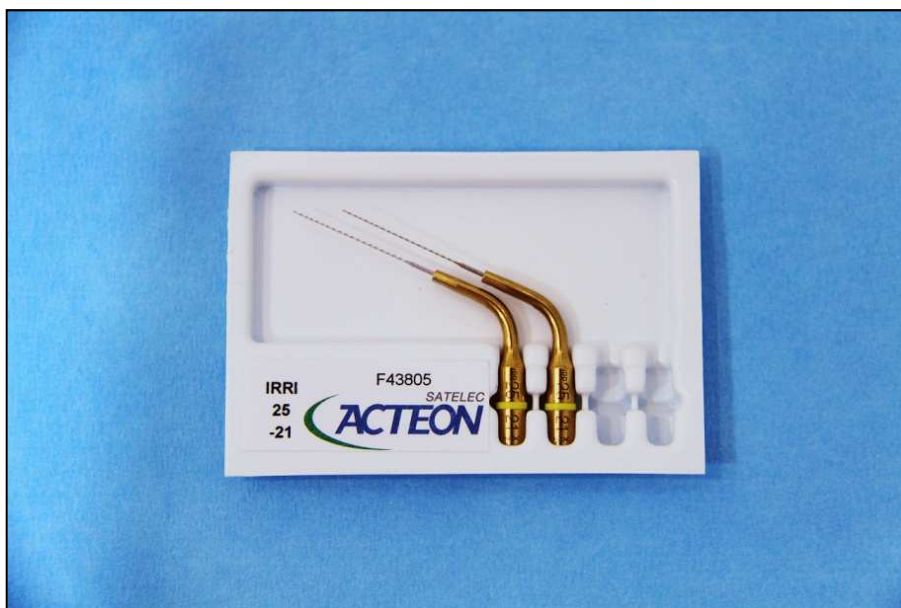


Imagen 11: Puntas Irrisafe 25/21

Por su parte, como ya se ha mencionado, en la **irrigación ultrasónica continua (IUC)** el irrigante se dispensa de forma continua mientras agita.

El ProUltra PiezoFlow es una aguja de irrigación ultrasónica (Dentsplay Tulsa Especialidades Dentales).

Emplea una irrigación continua por ultrasonidos (IUC) para realizar una entrega y activación simultánea del irrigante, a diferencia de la irrigación ultrasónica pasiva (IUP)

La agitación del hipoclorito de sodio (NaOCl) mejora la disolución de los tejidos orgánicos. Este sistema envía el irrigante al conducto activado ultrasónicamente, por lo que se disminuye el tiempo de preparación comparado con la irrigación ultrasónica pasiva. Es decir, que con este nuevo instrumento podemos activar el irrigante ultrasónicamente, aumentamos el volumen de irrigación y disminuimos el tiempo de irrigación.

Se trata de un mecanismo sencillo y cómodo de emplear.

Se conecta la aguja a la unidad ultrasónica, a la vez esta aguja va conectada a una jeringa por donde se envía el irrigante.

La jeringa se lleva al interior del conducto y se activa la unidad ultrasónica al mismo tiempo que se aplica el irrigante.

Según las instrucciones del fabricante, la aguja no debe llevarse más allá del 75% de la longitud total del conducto y la unidad ultrasónica debe encontrarse a mitad de su potencia máxima.

El movimiento que se debe realizar es un movimiento supero-inferior suave.

Este aparato parece que puede mejorar la irrigación en endodoncia, sin embargo, uno de los posibles problemas que puede presentar es el riesgo de extrusión de hipoclorito. Por lo que sería necesario realizar estudios de investigación en esta área.

Tanto la irrigación ultrasónica pasiva (IUP) como la continua (IUC), han mostrado ser eficaces en la eliminación de detritus del conducto (156)

2.8.2.5 *Dispositivos de alteración de presión*

Hay dos dilemas asociados a la jeringa convencional de entrega del irrigante. Es deseable que los irrigantes, entren en contacto directo con las paredes del conducto para limpiar de forma eficaz, y remover el barrillo dentinario. Sin embargo, es difícil para estos irrigantes llegar a la porción apical del conducto, debido al atrapamiento de aire, esto se produce sobre todo, cuando las puntas de la agujas se colocan demasiado lejos de la zona apical de los conductos. Y a la inversa, si la punta de la aguja es colocada muy cerca del foramen apical, aumenta el riesgo de extrusión del irrigante a los tejidos periapicales (219). Una solución plausible para este problema podría ser el uso de sistemas de entrega y aspiración del irrigante de forma conjunta

2.8.2.5.1 Sistema Endo Vac

Para la técnica de irrigación mediante presión negativa se emplea el dispositivo EndoVac (Discus Dental, Culver City, CA), que presenta una terminación en T, lo que permite realizar al mismo tiempo la irrigación de una notable cantidad de solución irrigadora en la cámara y aspirar en la zona apical mediante la aplicación de vacío a la micro-cánula o aguja.

El sistema presenta dos cánulas: una macro-cánula, adaptada a una pieza de mano, se utiliza durante toda la preparación del conducto al mismo tiempo que se irriga, su función es remover los residuos hísticos y las burbujas de aire que se crean en la hidrólisis de los tejidos, esto se realiza mediante un movimiento longitudinal de 2 mm arriba y abajo hasta la constricción apical.

Después de la utilización de la macro-cánula, se introduce una micro-cánula que es una aguja fina con 0.32 mm de diámetro, que presenta en la punta 12 agujeros de pequeño calibre y que permiten aspirar partículas de hasta 0.10 mm. Se emplea al finalizar la preparación colocando la punta a la longitud de trabajo durante 6 segundos

seguido de extraer la punta 6 segundos más, varias veces. Para conseguir este objetivo se precisa haber alcanzado un calibre 35/.04 en la porción apical del conducto (220)

Ya hemos mencionado que este sistema funciona por aspiración negativa, es decir, el irrigante es llevado al conducto por una jeringa pero es aspirado en la región apical o media por la micro o macro-cánula. De esta forma, el hipoclorito se está renovando continuamente.

Aparte de la capacidad de evitar el atrapamiento de aire, el sistema de EndoVac es también ventajoso por su gran seguridad, ya que puede llevar los irrigantes a la longitud de trabajo sin extruir irrigante al periápice (221).

Con el EndoVac el irrigante es llevado a la longitud de trabajo y eliminado por presión negativa. Al igual que para el EndoActivator® por tanto, se trata de un método seguro.(194).

2.8.2.5.2 Sistema RinsEndo

El sistema RinsEndo (Dürr Dental) es otro método de activación del irrigante basado en la tecnología de succión de presión (158, 170).

Es un sistema que se adapta a la manguera del equipo liberando la solución irrigadora en el conducto radicular a través de una aguja lateralmente, cuya punta se dispone a 5-6 mm de la longitud de trabajo.

La solución fluye con un caudal de 6,2 ml/min y a una vibración de 1,6 Hz.

Durante la fase de succión, la solución usada y el aire extraído del conducto radicular es automáticamente cambiado por una solución fresca que lo aclara.

Los ciclos de succión de presión cambian aproximadamente 100 veces por minuto.

El fabricante de RinsEndo manifiesta que el tercio apical del conducto podría ser limpiado con la cánula colocada en el tercio coronal del conducto.

Este sistema se ha demostrado en un modelo de diente extraído, siendo superior a la irrigación convencional estática con un marcador de tinte. Sin embargo, también se observó una mayor probabilidad de extrusión apical del irrigante (158).

La eficacia del sistema RinsEndo en la limpieza de las paredes del conducto fue estudiada por McGill (170). Este llegó a la conclusión que el sistema RinsEndo era menos efectivo en la limpieza que la irrigación manual dinámica



Fig. 12. RinsEndo. Imagen de www.kanaal.nwe.com

2.8.3 Fenómeno Vapor Lock

El atrapamiento de aire en un sistema de micro-conductos cerrado es un fenómeno físico bien conocido (222, 223).

Este fenómeno físico que nos podemos encontrar en nuestros tratamientos, está provocado por un atrapamiento de aire en el interior de los conductos.

Este fenómeno dificulta alcanzar los milímetros más apicales del conducto con sistemas de irrigación por presión positiva y los sistemas de activación.

Se produce por encontrarnos en conductos que no están cerrados al exterior en su zona apical y por una de las principales características del NaOCl y que marca la

diferencia respecto a otros irrigantes utilizados, que es la capacidad de disolución de materia orgánica.

Este proceso conlleva la formación de gases, principalmente dióxido de carbono y amonio en el interior de los conductos produciéndose atrapamiento de aire que dificultan aún más la penetración a nivel apical del irrigante así como el recambio a ese nivel.

Un problema añadido es que los sistemas de activación así como el método dinámico han demostrado una incapacidad de destruir ese bloqueo. Debemos tener en cuenta que la activación que generamos está concebida para activar un fluido pero las leyes físicas que rigen el comportamiento de los fluidos no son aplicables cuando nos encontramos con un medio fluido y también gaseoso.

Actualmente, sólo existe un artículo relevante (224) que analice específicamente este fenómeno y la influencia que sobre él tienen las condiciones en las que se realizan los estudios *in vitro*. Analiza, por medio de un control radiográfico, la penetración de la solución irrigante a la que se le añade Cloruro de Cesio (CsCl) como contraste y más tarde, en una segunda fase, se emplea microscopía electrónica de barrido, para observar la limpieza ejercida por la jeringa de irrigación, encontrándose una menor eficacia de la presión positiva en cuanto ésta se empleaba en un sistema cerrado, a pesar de liberar el irrigante a tan sólo 1 mm de la longitud de trabajo.

Chow también encontró en varios experimentos la presencia de una burbuja de aire en el conducto que no puede ser desplazada ni rodeada por el irrigante impidiendo su acceso a la porción apical (162)

2.8.4 Otros métodos de desinfección endodónticos

Ante la imposibilidad de esterilizar el conducto mediante irrigantes, surgen técnicas alternativas como la electrofulguración o fulguración electrónica. Este sistema, aplica una corriente alterna de alta frecuencia durante un brevísimo lapso de tiempo, vaporizando la pulpa radicular y eliminando el contenido bacteriano del sistema de conductos, en teoría casi al 100 %. Como inconvenientes, remarcar que no evita la

preparación del conducto mediante limas y que no se puede utilizar en pacientes portadores de marcapasos o con lentes de contacto intraoculares. Sus resultados han sido contradictorios, por lo que su uso no ha sido muy extendido (225)

Virtej y cols (226) comparan la eficacia de Endox® (aparato comercializado basado en la electrofulguración) con otros sistemas de irrigación y desinfección intraconducto. Sus resultados reflejan peores tasas de desinfección con Endox® que con otros sistemas.

Otros estudios han intentado crear flujos de irrigación cercanos al tercio apical. Los modelos de aspiración intraconducto se concibieron como alternativa a los modelos de dispersión del irrigante alojado en la cámara pulpar por parte de las limas. Esta técnica, sumerge una cánula de aspiración muy fina hasta el tercio apical y la irrigación se realiza desde otra cánula situada en el tercio coronal. Otra de las ventajas descrita en la técnica es que la extrusión, aunque existe, es mínima y parecida a la que se produce con las limas endodónticas (227-229). No existen muchos más datos hasta el momento sobre la eficacia clínica de este sistema.

En los años 90, Lussi y cols (31, 230) diseñaron la técnica no instrumental. Consiste en prescindir de algunos pasos e instrumentos de la técnica de instrumentación convencional, ya sea manual o rotatoria, para el desbridamiento del conducto radicular, aunque no prepara el conducto ni en forma ni en tamaño para su posterior sellado. Se trata de accionar un mecanismo que, basado en una teoría hidrodinámica, limpia el espacio pulpar por cavitación, cambios de presión y turbulencias del irrigante. Los autores concluyen, tras los estudios in vitro, que el sistema produce una reducción de la infección parecida a la instrumentación convencional con un ahorro significativo de tiempo. Sin embargo, Attin y cols (231) concluyen que esta técnica necesita modificaciones para conseguir resultados clínicos aceptables.

Otro sistema para reducir la cantidad de agentes patógenos en el interior del conducto ha sido el láser. Kimura y cols (232) en su artículo, concluyen que aunque en algunas situaciones el láser es eficaz, no es mejor que los irrigantes quelantes y desinfectantes combinados. Esto se debe a que el láser no logra alcanzar todos los rincones del complejo sistema de conductos, sobre todo en situaciones de conductos curvos. Esto coincide con otras investigaciones (135, 233). Además, otros estudios exponen dudas acerca del mecanismo de acción, ya que estos aparatos generan mucho

calor en el interior del espacio pulpar y esto podría afectar de manera negativa, en forma de anquilosis y reabsorciones radiculares (234, 235).

También se ha probado con emisión de rayos ultravioleta, basándose en la capacidad germicida de estas radiaciones. Los resultados ofrecen un futuro incierto para la desinfección intraconducto, ya que dependen del tipo y de la cantidad de bacterias para poder aplicarse con eficacia, tanto en tiempo como en dosis (236)

3 Hipótesis de trabajo

HIPÓTESIS DE TRABAJO

La etiología primaria de las lesiones perirradiculares están producidas por bacterias (237)

El tratamiento de conductos tiene como uno de sus objetivos, eliminar las bacterias que se encuentran en el interior de los mismos. La curación de la zona periapical depende de la reducción del número de bacterias y sus toxinas.(79).

El *Enterococcus faecalis* es el microorganismo que mejor se adapta y tolera las condiciones ecológicas existentes en los conductos radiculares, gracias a ciertas características microbiológicas como son sus factores de virulencia y su capacidad de formar biofilms (28).

Existe por tanto un interés en mejorar la eficacia de la irrigación, mediante diversos sistemas “asistidos por tecnología”, como son la irrigación sónica y la irrigación ultrasónica

Por todo lo expuesto, la hipótesis nula que se plantea es:

(H0): Las técnicas de irrigación utilizadas en este estudio, eliminan el mismo número de colonias de *Enterococcus faecalis* tanto cuando su recuento se lleva a cabo a las 24 horas como a las 48 horas.

(H0): Todas las técnicas de irrigación/activación utilizadas en este estudio eliminan el mismo número de *Enterococcus faecalis*.

(H0): Las técnicas de irrigación/activación utilizadas en este estudio, eliminan el mismo número de colonias de *Enterococcus faecalis* independientemente de que el irrigante se deposite en la cámara pulpar o en el ápice.

(H0): Al repetir el ciclo de irrigación/aspiración 3 veces se consigue un efecto acumulativo en la eliminación del *Enterococcus faecalis*.

4 Objetivos

OBJETIVOS

Primero

Determinar si la combinación de hipoclorito de sodio con ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) es eficaz en la eliminación del *Enterococcus faecalis* en el interior del conducto radicular.

Segundo

Comprobar si la activación sónica o la activación ultrasónica del hipoclorito de sodio más ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) aumenta la eficacia en la eliminación del *Enterococcus faecalis*

Tercero

En caso de que la activación aumente la eficacia en la eliminación del *Enterococcus faecalis*, comprobar si existen diferencias entre la activación sónica y la ultrasónica.

Cuarto

Comprobar si el lugar de colocación de la sustancia irrigadora afecta a la capacidad de eliminación del *Enterococcus faecalis*

Quinto

Comprobar si la repetición del ciclo irrigación/activación provoca un efecto acumulativo en la eficacia de la eliminación del *Enterococcus faecalis*

5 Material y Método

MATERIAL Y MÉTODO

5.1 Material

304 dientes unirradicales

Turbina Kavo Mini Lux 3 (Kavo Dental GmbH, Biberach an der Riß, Alemania)

Fresa redonda de diamante grano N° 4 (MDT, Eggenstein-Leopoldshafen. Alemania).

Fresa Endo Z (Dentsplay Maillefer, Ballaigues, Suiza)

Lima K-Flexo File calibre 010 (Dentsplay Maillefer, Ballaigues, Suiza)

Limas Path File N°1, N° 2 y N° 3 (Dentsplay Maillefer, Ballaigues, Suiza)

Limas Protaper Universal SX-S1-S2-F1-F2 (Dentsplay Maillefer, Ballaigues, Suiza)

Puntas de papel de 025 (Dentsplay Maillefer, Ballaigues, Suiza)

Endo Motor X-Smart (Dentsplay Maillefer, Ballaigues, Suiza)

Contra ángulo 16:1 para Endo motor X-Smart (Dentsplay Maillefer, Ballaigues, Suiza)

Regleta milimetrada (Dentsplay Maillefer, Ballaigues, Suiza)

Endobloc (Dentsplay Maillefer, Ballaigues, Suiza)

Flexo-bend (Dentsplay Maillefer, Ballaigues, Suiza)

Bolitas de algodón

Gasas

Alcohol 96°

Hipoclorito sódico al 5,25%

EDTA gel Denta Flux, (J. Ripol S. L. Madrid, España)

EDTA líquido al 17 %

Jeringa desechable 10 ml Terumo (Labcitec, DF. México)

Aguja 27-gauge (ProRinse; Dentsply Tulsa Dental Specialities, Tulsa, OK, USA)

Ácido ortofosfórico en gel (Ivoclar Vivadent AG, Schaan, Liechtenstein)
 Adhesivo dentinario fotopolimerizable de 1ª generación Ena Bond
 (Micerium S. p. A, Avegno, Italia)
 Composite fluido Tetric EvoFlow (Ivoclar Vivadent AG, Schaan,
 Liechtenstein)
 Lámpara de polimerización Bluphase (Ivoclar Vivadent AG, Schaan,
 Liechtenstein).
 Cera Moico X- hard
 EndoActivator® (Dentsply Tulsa Denatl Specialities, Tulsa, OK, USA)
 Puntas de EndoActivator® de tamaño medio 25/04 (Dentsply Tulsa Denatl
 Specialities, Tulsa, OK, USA)
 Ultrasonidos Acteon Satelec (Acteon Merignac, Francia)
 Puntas de ultrasonidos IRRISAFE® Acteon Satelec (Acteon Merignac,
 Francia)
 Autoclave Euronda E7 (Euronsa SPA, Vicenza, Italia)
 Bolsas de esterilizar 14 x 25 cm (Proclinic, Zaragoza, España)
Enterococcus faecalis (ATTC® 23655™, American Type Culture
 Collection)
 Placas Petri (Dismalab, Madrid, España)
 Pipetas y puntas de laboratorio (Dismalab, Madrid, España)
 Tubos Falcon (Dismalab, Madrid, España)
 Mechero de alcohol
 Torundas de algodón
 Agua destilada
 Agujas Miraject Endotec Luer 0,3 (Hager Werken, Duisburg, Alemania)
 Tubos Eppendorf (Dismalab, Madrid, España)
 Centrifugadora (Hermle®, Alemania).
 PBS (Phosphate Buffer Solution)
 Medio BHI agar (Brain Heart Infusion agar, Difco, BD, Francia)
 Cronómetro. (Lab-Center S.L, Madrid, España)
 Estufa Bacteriológica (JP Selecta, Barcelona, España)
 Microscopio biológico binocular (microscopio KYOWA OPTICAL,
 model SDZ-P, Tokio, Japón)
 Espectofotómetro (DINKO Instruments D-101, Barcelona, España)

5.2 Método

El trabajo de investigación se ha realizado en el Departamento de Odontología Conservadora y el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Odontología de la Universidad Complutense de Madrid.

5.2.1 Selección de dientes

En este estudio se utilizaron 304 dientes extraídos, incluyendo incisivos, caninos y premolares unirradiculares, superiores e inferiores.

No se tiene en cuenta el sexo ni la edad de los pacientes sometidos a las exodoncias. Una vez extraídos se limpia la superficie externa del diente con hipoclorito al 5,25% y se conservan en solución salina hasta el momento de su utilización.

La presencia de un solo conducto fue verificada mediante exploración radiográfica y visión directa.

Se realizó un examen visual y radiológico de los dientes extraídos y se aplicaron los siguientes criterios de exclusión:

Inspección visual: Se descartan aquellos dientes que presentan fracturas, fisuras, caries radiculares, ápices inmaduros u obturaciones radiculares.

Examen radiológico: se descartan aquellos dientes que presentan tratamientos endodónticos previos.

5.2.2 Preparación de las muestras

El mismo operador realizó todo el experimento.

A todos los dientes, se les realiza apertura cameral a alta velocidad con turbina Kavo Mini Lux 3, y fresa redonda de diamante de grano grueso N° 4, hasta caer en

cámara pulpar. Para la delimitación del contorno y realizar el diseño de la apertura correspondiente en cada diente se utiliza fresa Endo Z con punta inactiva.

Se determina la longitud de trabajo bajo observación macroscópica, visualizando la punta de una lima K-Flexo file del calibre 010, por el foramen apical y restando a esa longitud 0,5 milímetros.

El glide path se llevó a cabo con limas Path file de conicidad 2 %, siguiendo la secuencia: lima Path file N° 1, calibre en la punta 013, N°2 calibre en la punta 016 y N° 3 de calibre en la punta 019, y posteriormente se instrumentó con Protaper Universal siguiendo la secuencia recomendada por el fabricante (SX-S1-S2-F1-F2).



Imagen 13: Clean stand con limas path file y Protaper Universal



Imagen 14: Material utilizado en la instrumentación de las muestras

Todas las limas fueron lubricadas con EDTA en gel antes de introducirlas en el conducto. Se mantuvo la permeabilidad del conducto pasando una lima K-flexo file 010 1 mm pasado del foramen apical después de instrumentar con lima mecánica

La irrigación fue llevada a cabo con aguja 27-gauge montada en jeringa desechable de 10 ml, empleando 3 ml de hipoclorito de sodio al 5,25 % después de cada lima. Éste se depositó en cámara pulpar.

Los conductos radiculares se secaron con puntas de papel de calibre 025.

Todas las muestras fueron selladas en la zona del ápice mediante grabado ácido ortofosfórico al 37% en gel, adhesivo dentinario fotopolimerizable y composite fluido Tetric EvoFlow.

Los dientes se esterilizaron en bolsas individuales, en autoclave Euronda E7 a 121°C y 1,05 Bar durante 30 minutos.



Imagen 15:- Autoclave Euronda E7

Acto seguido los dientes se llevaron al laboratorio para su inoculación.



Imagen 16:- Material utilizado en laboratorio

5.2.3 Infección Dental

Se preparó en un tubo Falcon, un preinóculo con *Enterococcus faecalis* de la cepa ATTC 23655, cultivada en una infusión nutritiva hecha a base de cerebro y corazón (Brain Heart Infusion, BHI), y se incubó 24 horas en aerobiosis a 37 °C

Se comprobó que el crecimiento de esta suspensión (*Enterococcus faecalis* en BHI), tuviera una absorbancia de 0,5 respecto a una solución de BHI sin bacteria. La absorbancia se midió con un espectrofotómetro (DINKO Instruments D-101, Barcelona, España) ajustado a una longitud de onda de 590 nm. Previamente se determinó que el número de unidades formadoras de colonias (UFC) presentes en la solución de *E. f* se ajustara entre 10^7 y 10^8 UFC/ml.

Los dientes, se introdujeron en este tubo Falcon con la suspensión de *Enterococcus faecalis*, manteniéndolos en anaerobiosis durante 24 horas a 37°C



Imagen 17: Espectrofotómetro (DINKO Instruments D-101, Barcelona, España)

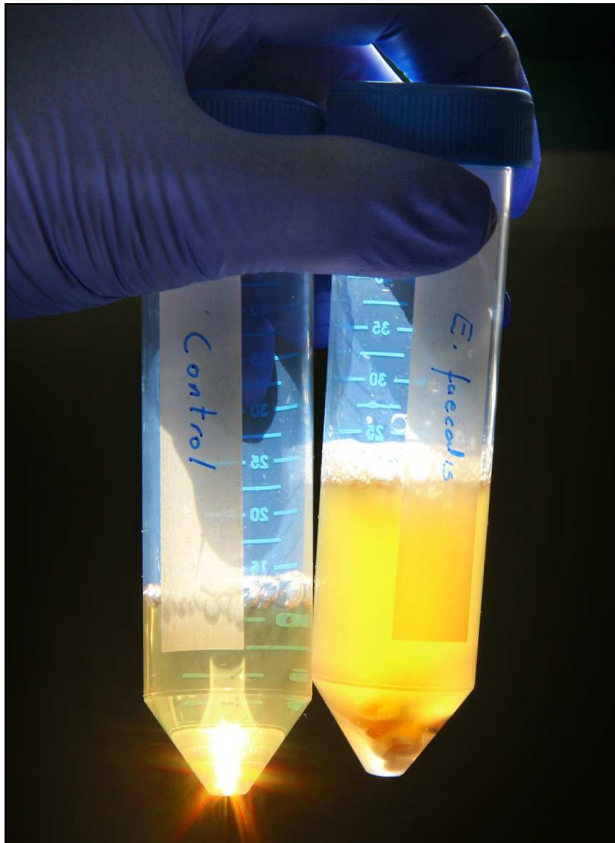


Imagen 18: Inoculación de muestras con *Enterococcus faecalis*

5.2.4 Procesamiento de los dientes infectados

Las muestras se extraen del preinóculo y antes de manipularlas, la superficie externa se desinfecta con una torunda de algodón impregnada en hipoclorito sódico al 5,25%, con el fin de eliminar, todo lo posible, las bacterias que hayan formado biofilm en la superficie externa del diente.

Después se limpia esa superficie con agua destilada para neutralizar el hipoclorito sódico.

Grupo control negativo (-) Se utilizaron 30 dientes extraídos a los que no se les inoculó bacteria. Se comprobó mediante turbidez que no existía crecimiento bacteriano.

Grupo control positivo (+): Cada día de trabajo, de entre todos los dientes inoculados se escoge uno al azar, al que no se realiza ningún tratamiento de irrigación/activación. Se recoge con 1 ml de PBS (phosphate buffer solution) del interior del conducto a nivel de ápice, y se siembra en placa, para verificar que existe crecimiento bacteriano.

Encontramos un 100% de infección por *E .f.*

5.2.5 Grupos experimentales

Los 304 dientes se dividieron en 3 grupos:

- ✓ **Grupo I:** 30 dientes que se utilizaron como control negativo
- ✓ **Grupo II:** 240 dientes que se utilizaron para realizar este experimento.
- ✓ **Grupo III:** 34: dientes para realizar el ciclo irrigación/activación 3 veces y analizar si se consigue un efecto acumulativo en la eliminación del *E .f.* con estas técnicas.

Grupo II: Los 240 dientes se dividen en 3 grupos: Grupo 1, 2 y 3, que corresponden con la técnica de irrigación a la que van a ser sometidos. Cada grupo está formado por 80 dientes. Éstos a su vez se subdividen en 2 grupos: Grupo A y B. En el grupo A, se depositará y activará el irrigante en la cámara pulpar y en el B a 3 mm de la longitud de trabajo.

- **GRUPO 1 (n= 80): Irrigación sin activación con jeringa convencional**

Las muestras fueron irrigadas con aguja 27-gauge montada en jeringa manual desechable Terumo de 10 ml.

Se dividieron en:

➤ Grupo 1A (n=40): Irrigación en cámara pulpar.

La irrigación se llevó a cabo en cámara pulpar.

Se hizo un lavado final con 10 ml de hipoclorito sódico al 5,25 % durante 3 min, después un lavado de 10 ml con EDTA al 17 % durante 1 min y por último un lavado final de 10 ml con hipoclorito sódico al 5,25 % durante 3 min, para neutralizar el EDTA.



Imagen19: Jeringa desechable Terumo de 10 ml con aguja 27 gauge

➤ Grupo 1B (n=40): Irrigación a 3 mm de la longitud de trabajo.(ápice)

La jeringa de irrigación fue introducida pasivamente a 3 mm de la longitud de trabajo donde se realizó la misma secuencia de lavado final que en el grupo 1A.

10 ml de hipoclorito sódico al 5,25 % durante 3 min, después 10 ml de EDTA al 17 % durante 1 min y finalmente 10 ml de hipoclorito sódico 3 min.

- **GRUPO 2 (n=80) Irrigación con activación Sónica (EndoActivator®)**

Las muestras se dividieron en 2 subgrupos

- Grupo 2A (n=40): Activación sónica con EndoActivator® en cámara pulpar.

En este grupo la secuencia de irrigantes se lleva mediante jeringa convencional con aguja 27-gauge. Se depositan 10 ml de hipoclorito sódico al 5,25% en la cámara pulpar y se activa con EndoActivator® con punta flexible de tamaño medio (25/04) durante 3 minutos, se aspira el hipoclorito y se depositan 10 ml de EDTA al 17% activándolo durante 1 min. Se aspira el EDTA y por último se lava con 10 ml de hipoclorito sódico al 5,25% activando durante 3 min

- Grupo 2B (n=40): Activación sónica con EndoActivator® a 3 mm longitud de trabajo: (ápice)

La secuencia de irrigación es la misma que en el grupo 2A, es decir, dejamos la solución irrigante a nivel de ápice, y realizamos la activación a 3 mm de la longitud de trabajo).

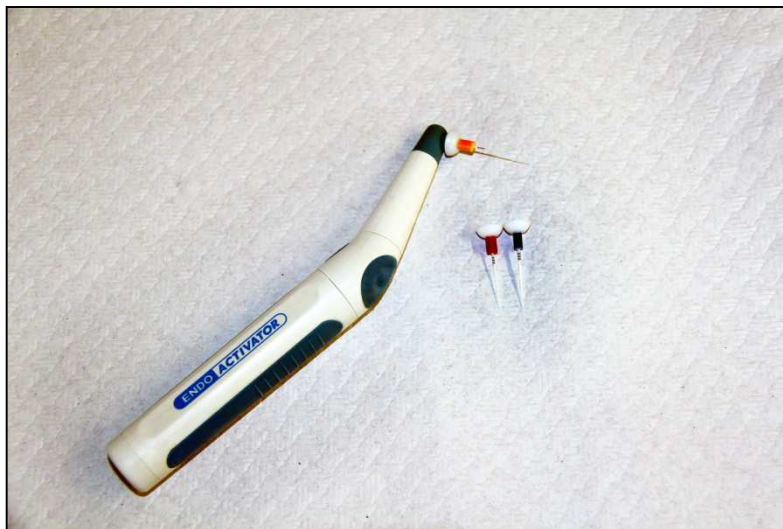


Imagen 20: EndoActivator®

- **GRUPO 3 (n=80) Irrigación con activación Ultrasónica (IRRISAFE®)**

Las muestras se dividieron en:

- Grupo 3A (n=40): Activación Ultrasónica con Irrisafe® en cámara pulpar:

La secuencia final de irrigación/activación es: Se lleva a nivel de cámara pulpar 10 ml de NaOCl al 5,25 % y se activa 3 min con la punta de Irrisafe® montada en ultrasonidos Acteon Satelec, se aspira el hipoclorito, después se deposita 10 ml de EDTA al 17% activando 1 min, se aspira y para neutralizar el EDTA, se deposita 10 ml de hipoclorito sódico al 5,25% activado 3 min. La activación se realiza en cámara pulpar.

- Grupo 3B (n=40): Activación Ultrasónica con Irrisafe® en longitud de trabajo:

Se realiza la misma secuencia de irrigación/activación, llevando la combinación de irrigantes con jeringa convencional a 3 mm de longitud de trabajo y activando con ultrasonidos a ese nivel.

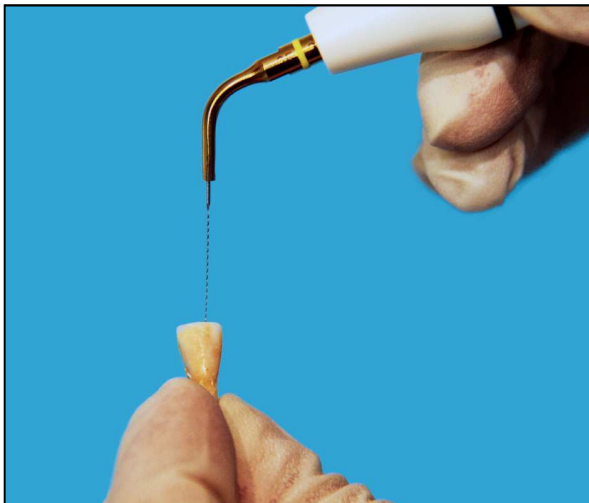


Imagen 21: Activación del irrigante con Ultrasonidos Acteon Satelec ® y puntas Irrisafe®

Grupo III: Grupo formado por 34 dientes sobre los que se realiza el tratamiento irrigación/aspiración 3 veces. Se dividen igual que en grupo II

Grupo Sin Activación: Se lleva a cabo con jeringa convencional con aguja 27 gauge. Se utilizan 7 dientes en donde se deposita el irrigante en cámara y 5 en ápice (3mm de la longitud de trabajo).

El lavado final es: 10 ml NaOCl al 5,25% durante 3 min + 10 ml de EDTA 17% 1 min + 10 ml de NaOCl al 5,25% durante 3 minutos. Se aspira el NaOCl. El ciclo irrigación/aspiración se repite 3 veces con un intervalo entre ciclo y ciclo de 10 minutos

Grupo Activación Sónica: La combinación de NaOCl + EDTA se lleva a cámara o a ápice con jeringa convencional y se activa con EndoActivator®. Se utilizan 6 dientes en cámara pulpar y 4 en ápice.

Lavado final: 10 ml de NaOCl al 5,25% activando 3 minutos, se aspira el hipoclorito, se deposita 10 ml EDTA 17% se activa, se aspira el EDTA y se depositan 10 ml de NaOCl al 5,25% activando 3 min. Se repite el proceso 2 veces más con un intervalos de 10 minutos entre ciclo y ciclo.

Grupo de Activación Ultrasónica: Utilizamos 7 dientes para la irrigación en cámara y 5 para la irrigación en ápice. La misma combinación de irrigantes para el lavado final se lleva con jeringa convencional y se activa con punta IRRISAFE® montada en ultrasonidos Acteon Satelec, en cámara y en ápice. Se repite el proceso 3 veces.

Se realizará el mismo proceso para el recuento del número de colonias a las 24 horas. No se toman muestras a las 48 horas.

5.2.6 Recuento del número de bacterias

Una vez se ha realizado el tratamiento de irrigación y activación correspondiente a cada grupo, de cada diente se recoge con aguja Miraject Endotec Luer 0,3 (Hager Werken, Duisburg, Alemania), en 1 ml de PBS, una muestra del interior del conducto a nivel del ápice, a 3 mm de la longitud de trabajo (independientemente de dónde se haya

realizado el tratamiento de irrigación/activación), se lleva a un tubo Eppendor que lleva incorporado tiosulfato de sodio al 1 % para desactivar el posible hipoclorito que pudiera quedar en la muestra.

Todo este contenido, se lava con 1 ml de PBS y se lleva a la centrifugadora (Hermle®, Alemania). Se centrifuga a 8000 rpm durante 5 minutos, repitiendo este proceso 2 veces, con el fin de eliminar el sobrenadante de hipoclorito sódico e impedir que éste interfiera en el crecimiento bacteriano del *Enterococcus faecalis*.



Imagen 21: Centrifugadora (Hermle®, Alemania).



Imagen 22: Centrifugadora (Hermle®, Alemania).

De todo este proceso, se obtiene un pellet, se diluye en 1 ml de PBS y se cultiva en placa en medio BHI agar (Difco, BD, Francia).

Una vez se ha recogido la muestra del interior del conducto y se ha sembrado en placa, se sella la apertura cameral del diente con Cera Moico y se introduce en un tubo Falcon que contiene BHI caldo.

Los tubos Falcon con los dientes y los cultivos en placa se llevan a una estufa a 37°C y en condiciones de aerobiosis durante 24 horas.

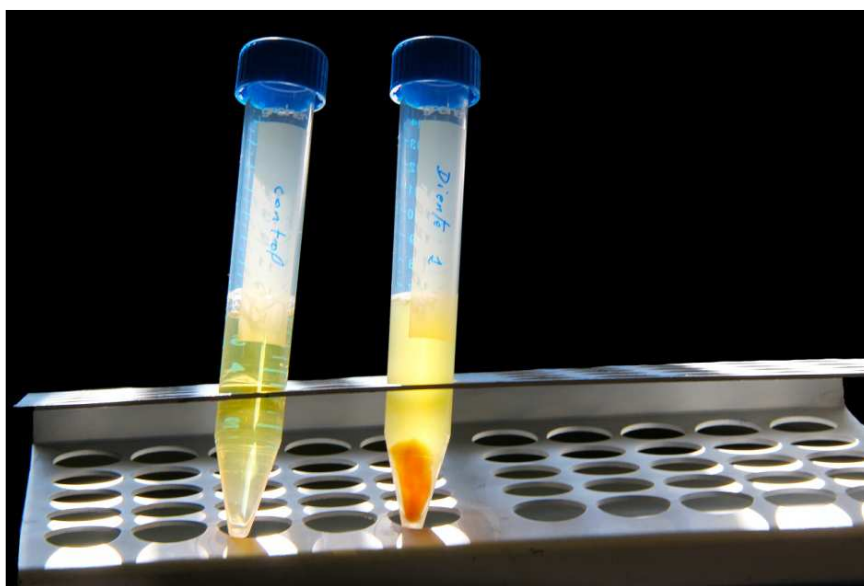


Imagen 23: Diente en tubo Falcon con crecimiento de *E. f.* después de estar en la estufa a 37 °C y aerobiosis 24 horas

A las 24 horas se procede a:

Realizar el recuento de UFC (unidades formadoras de colonias) de *E. f.* en los cultivos en placa BHI agar: Se realiza el recuento de UCF: En primer lugar, se confirma por morfología y tinción gram + (coco gram +) que las colonias son *E. f.* Posteriormente, se realiza el recuento de unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/ml).



Imagen 23: Crecimiento de *E. f.* cultivado en placa BHI agar.

Tubos Falcon: De cada diente, se limpia la superficie externa con una torunda de algodón mojada en hipoclorito sódico al 5,25%. Se extrae el sellado cameral, se toma otra muestra del interior del conducto con 1 ml de PBS (phosphate buffer solution) a 3 mm de la longitud de trabajo. Y se realiza la misma operación que 24 horas antes, hasta llegar a sembrar en placa en BHI agar.

Este proceso no se realiza en los dientes en los que se repite el ciclo irrigación/aspiración 3 veces

Las placas con la siembra en sólido (BHI agar) se introducen de nuevo en la estufa a 37°C en condiciones de aerobiosis durante 24 h



Imagen 24: Microscópico KYOWA OPTICAL, model SDZ-PL

A las 48 horas:

Cultivos en placas BHI agar: Comprobamos la presencia de *E. f* y se contabilizan las colonias por mililitro (UFC/ml)

5.2.7 Análisis Estadístico

El estudio estadístico de los datos obtenidos en este trabajo se llevó a cabo en el servicio Centro de Apoyo a la Investigación (CAI) de Estadística de la Universidad Complutense de Madrid.

El análisis se realizó con el programa informático IBM SPSS STATISTICS versión 22. (IBM, Nueva York, Estados Unidos)

Se realiza una estadística descriptiva en la que se hallan valores medios, mediana, desviación estándar, máximos, mínimos y percentiles 25 y 75.

Para la estadística inferencial, los datos se sometieron a los test de comparaciones múltiples, utilizando test de Friedman, test de Kruskal- Wallis y test de Mann Whitney. Posteriormente se realizó corrección de P valores por el método de Bonferroni (la P resultante de la comparación de cada dos grupos se multiplica por el número total de la comparación)

Los valores $P \leq 0,05$ fueron considerados estadísticamente significativos

6 Resultados

RESULTADOS

En primer lugar haremos un breve recordatorio de las variables

- **Técnicas de irrigación:**
 - ✓ Jeringa convencional sin activación (1)
 - ✓ Activación Sónica. (2)
 - ✓ Activación Ultrasónica (3)
- **Longitud del diente**
 - ✓ En cámara pulpar (0)
 - ✓ En Ápice (a 3mm de longitud de trabajo) (1)
- **Control Positivo +:** Corresponde con el diente control positivo (Control+)
- **24 horas:** Una vez se ha realizado el tratamiento correspondiente, se recoge una muestra del interior del conducto de cada diente, se siembra en placa y a las 24 horas se efectúa el recuento de UFC. (24h)
- **48 Horas:** A las 24 horas se recoge de nuevo una nueva muestra del interior de conducto, se siembra y a las 48 horas se efectúa el recuento de UFC. (48h)
- **3 ciclos:** Corresponde con los dientes sobre los que se realizan el lavado final 3 veces.

Los datos se presentan en las siguientes tablas

6.1 Tablas de Resultados

Tabla 1: Recuento de UFC en control positivo (control +), 24 horas (24h) y a 48 horas (48h).

Jeringa convencional sin activación (1) dejando el irrigante en cámara pulpar (0)

Muestra	Sin Activación	Cámara Pulpar	Control +	24 horas	48 horas
1	1	0	$2,27*10^4$	0	0
2	1	0	$2,27*10^4$	0	$2,5*10^7$
3	1	0	$2,27*10^4$	0	$1,7*10^7$
4	1	0	$2,27*10^4$	0	$2,2*10^8$
5	1	0	$2,27*10^4$	0	$1,9*10^8$
6	1	0	$2,27*10^4$	0	$2,3*10^5$
7	1	0	$3,29*10^5$	20	$2,1*10^3$
8	1	0	$3,29*10^5$	0	60
9	1	0	$3,29*10^5$	10	10
10	1	0	$3,29*10^5$	0	0
11	1	0	$3,29*10^5$	50	0
12	1	0	$3,29*10^5$	30	0
13	1	0	$2*10^5$	0	0
14	1	0	$2*10^5$	0	0
15	1	0	$2*10^5$	30	120
16	1	0	$2*10^5$	10	0
17	1	0	$2*10^5$	70	$1,2*10^2$

18	1	0	$2 \cdot 10^5$	50	0
19	1	0	$2 \cdot 10^5$	20	25
20	1	0	$2 \cdot 10^5$	30	35
21	1	0	300	130	120
22	1	0	300	180	8720
23	1	0	300	80	220
24	1	0	300	110	6360
25	1	0	$2,3 \cdot 10^4$	225	$9,2 \cdot 10^5$
26	1	0	$2,3 \cdot 10^4$	0	0
27	1	0	$2,3 \cdot 10^4$	0	$6,7 \cdot 10^5$
28	1	0	$2,3 \cdot 10^4$	0	0
29	1	0	$2,3 \cdot 10^4$	0	$4,88 \cdot 10^3$
30	1	0	$2,3 \cdot 10^4$	0	$2,1 \cdot 10^6$
31	1	0	$2,3 \cdot 10^4$	0	$1,92 \cdot 10^6$
32	1	0	$2,4 \cdot 10$	$10,3 \cdot 10$	$10,3 \cdot 10^2$
33	1	0	$2,4 \cdot 10^4$	0	0
34	1	0	$2,4 \cdot 10^4$	0	0
35	1	0	$2,4 \cdot 10^4$	0	0
36	1	0	$2,4 \cdot 10^4$	0	0
37	1	0	$2,4 \cdot 10^4$	0	0
38	1	0	$2,4 \cdot 10^4$	0	0
39	1	0	$2 \cdot 10^4$	84	$3,7 \cdot 10^6$
40	1	0	$2,4 \cdot 10^4$	0	$4,5 \cdot 10^6$

Tabla 2: Recuento de UFC en el control positivo (control +), 24 horas (24h) y 48 horas (48h).

Jeringa convencional sin activación (1) y dejando el irrigante en ápice (1)

Muestra	Sin Activación	Ápice	Control +	24 horas	48 horas
41	1	1	$1,22 \cdot 10^4$	0	20
42	1	1	$1,22 \cdot 10^4$	0	0
43	1	1	$1,22 \cdot 10^4$	0	0
44	1	1	$1,22 \cdot 10^4$	20	0
45	1	1	$1,22 \cdot 10^4$	0	10
46	1	1	$1,22 \cdot 10^4$	0	30
47	1	1	$1,22 \cdot 10^4$	30	0
48	1	1	$1,22 \cdot 10^4$	0	220
49	1	1	$1,22 \cdot 10^4$	0	650
50	1	1	$1,22 \cdot 10^4$	0	0
51	1	1	$1,12 \cdot 10^6$	0	2365
52	1	1	$1,12 \cdot 10^6$	0	$2,70 \cdot 10^5$
53	1	1	$1,12 \cdot 10^6$	0	$3 \cdot 10^3$
54	1	1	$1,12 \cdot 10^6$	0	250
55	1	1	$1,12 \cdot 10^6$	0	$3,5 \cdot 10^4$
56	1	1	$1,12 \cdot 10^6$	35	0
57	1	1	$1,12 \cdot 10^6$	0	$5,60 \cdot 10^3$
58	1	1	$3,6 \cdot 10^5$	0	$5,60 \cdot 10^3$
59	1	1	$3,6 \cdot 10^5$	0	$2,27 \cdot 10^4$

60	1	1	$3,6 \cdot 10^5$	0	$1,10 \cdot 10^4$
61	1	1	$3,6 \cdot 10^5$	0	$1,08 \cdot 10^3$
62	1	1	$3,6 \cdot 10^5$	0	$1,7 \cdot 10^5$
63	1	1	$3,6 \cdot 10^5$	0	$3,2 \cdot 10^5$
64	1	1	$3,6 \cdot 10^5$	0	$4,8 \cdot 10^3$
65	1	1	$3,6 \cdot 10^5$	72	$5,6 \cdot 10^5$
66	1	1	$3,6 \cdot 10^5$	0	$2,7 \cdot 10^3$
67	1	1	$3,6 \cdot 10^5$	0	$1,4 \cdot 10^4$
68	1	1	$4,6 \cdot 10^5$	27	$1,09 \cdot 10^3$
69	1	1	$4,6 \cdot 10^5$	0	$2,2 \cdot 10^5$
70	1	1	$4,6 \cdot 10^5$	0	$1,34 \cdot 10^3$
71	1	1	$4,6 \cdot 10^5$	250	$1,9 \cdot 10^3$
72	1	1	$4,6 \cdot 10^5$	0	$1,02 \cdot 10^3$
73	1	1	$4,6 \cdot 10^5$	0	$4,9 \cdot 10^3$
74	1	1	$4,6 \cdot 10^5$	17	$6,1 \cdot 10^5$
75	1	1	$4,6 \cdot 10^5$	0	$3,5 \cdot 10^4$
76	1	1	$4,6 \cdot 10^5$	0	$2,04 \cdot 10^4$
77	1	1	$4,6 \cdot 10^5$	0	$3,4 \cdot 10^4$
78	1	1	$1,8 \cdot 10^6$	0	$1,3 \cdot 10^6$
79	1	1	$1,8 \cdot 10^6$	320	$5,1 \cdot 10^5$
80	1	1	$1,8 \cdot 10^6$	0	$8,2 \cdot 10^5$

Tabla 3: Datos obtenidos en el recuento de UFC en el control positivo (control +), a las 24 horas (24h) y a las 48 horas (48h).

Activación sónica (2) y dejando el irrigante en cámara pulpar (0)

Muestra	Activación Sónica	Cámara Pulpar	Control +	24 horas	48 horas
1	2	0	$2,5 \cdot 10^5$	0	0
2	2	0	$2,5 \cdot 10^5$	0	0
3	2	0	$2,5 \cdot 10^5$	0	0
4	2	0	$2,5 \cdot 10^5$	10	0
5	2	0	$1,8 \cdot 10^5$	20	10
6	2	0	$1,8 \cdot 10^5$	10	0
7	2	0	$1,8 \cdot 10^5$	10	10
8	2	0	$1,8 \cdot 10^5$	40	0
9	2	0	$1,8 \cdot 10^5$	20	20
10	2	0	$1,46 \cdot 10^5$	0	80
11	2	0	$1,46 \cdot 10^5$	0	100
12	2	0	$1,46 \cdot 10^5$	0	$1,2 \cdot 10^6$
13	2	0	$1,46 \cdot 10^5$	0	$2,5 \cdot 10^5$
14	2	0	$9,8 \cdot 10^4$	0	$2,3 \cdot 10^5$
15	2	0	$9,8 \cdot 10^4$	0	0
16	2	0	$9,8 \cdot 10^4$	0	$3,6 \cdot 10^4$
17	2	0	$9,8 \cdot 10^4$	0	0
18	2	0	$9,8 \cdot 10^4$	0	$3,9 \cdot 10^4$
19	2	0	$9,8 \cdot 10^4$	0	0

20	2	0	$9,8 \cdot 10^4$	0	$3,2 \cdot 10^3$
21	2	0	$9,8 \cdot 10^4$	0	0
22	2	0	$9,8 \cdot 10^4$	0	0
23	2	0	$8,5 \cdot 10^4$	0	0
24	2	0	$8,5 \cdot 10^4$	0	0
25	2	0	$8,5 \cdot 10^4$	0	0
26	2	0	$8,5 \cdot 10^4$	0	125
27	2	0	$8,5 \cdot 10^4$	0	0
28	2	0	$8,5 \cdot 10^4$	0	0
29	2	0	$8,5 \cdot 10^4$	0	0
30	2	0	$3,1 \cdot 10^4$	0	0
31	2	0	$3,1 \cdot 10^4$	0	0
32	2	0	$3,1 \cdot 10^4$	0	78
33	2	0	$3,1 \cdot 10^4$	0	0
34	2	0	$3,1 \cdot 10^4$	0	0
35	2	0	$3,1 \cdot 10^4$	0	125
36	2	0	$3,1 \cdot 10^4$	0	0
37	2	0	$3,1 \cdot 10^4$	0	840
38	2	0	$3,1 \cdot 10^4$	0	0
39	2	0	$3,1 \cdot 10^4$	0	35
40	2	0	$3,1 \cdot 10^4$	0	0

Tabla 4: Datos obtenidos en el recuento de UFC en el control positivo (control +), a las 24 horas (24h) y a las 48 horas (48h).

Activación sónica (2) y dejando el irrigante en ápice (1)

Muestra	Activación Sónica	Ápice	Control +	24 horas	48 horas
41	2	1	$3,76 \cdot 10^5$	0	60
42	2	1	$3,76 \cdot 10^5$	0	0
43	2	1	$3,76 \cdot 10^5$	0	0
44	2	1	$3,76 \cdot 10^5$	0	53
45	2	1	$3,76 \cdot 10^5$	0	0
46	2	1	$3,76 \cdot 10^5$	0	123
47	2	1	$3,76 \cdot 10^5$	0	0
48	2	1	$3,76 \cdot 10^5$	0	0
49	2	1	$3,76 \cdot 10^5$	0	612
50	2	1	$3,76 \cdot 10^5$	0	501
51	2	1	$1,65 \cdot 10^6$	0	920
52	2	1	$1,65 \cdot 10^6$	0	0
53	2	1	$1,65 \cdot 10^6$	0	0
54	2	1	$1,65 \cdot 10$	3720	950
55	2	1	$1,65 \cdot 10^6$	0	$3,2 \cdot 10^4$
56	2	1	$1,65 \cdot 10^6$	0	20
57	2	1	$1,65 \cdot 10^6$	0	320
58	2	1	$1,65 \cdot 10^6$	0	125
59	2	1	$1,65 \cdot 10^6$	0	0

60	2	1	$1,65 \cdot 10^6$	0	0
61	2	1	$4,2 \cdot 10^5$	0	85
62	2	1	$4,2 \cdot 10^5$	0	$1,82 \cdot 10^4$
63	2	1	$4,2 \cdot 10^5$	0	112
64	2	1	$4,2 \cdot 10^5$	0	0
65	2	1	$4,2 \cdot 10^5$	0	81
66	2	1	$4,2 \cdot 10^5$	0	0
67	2	1	$4,2 \cdot 10^5$	0	$1,82 \cdot 10^4$
68	2	1	$4,2 \cdot 10^5$	0	0
69	2	1	$4,2 \cdot 10^5$	0	620
70	2	1	$4,2 \cdot 10^5$	0	$1,82 \cdot 10^4$
71	2	1	$1,04 \cdot 10^5$	0	0
72	2	1	$1,04 \cdot 10^5$	0	67
73	2	1	$1,04 \cdot 10^5$	0	320
74	2	1	$1,04 \cdot 10^5$	0	23
75	2	1	$1,04 \cdot 10^5$	35	$1,02 \cdot 10^4$
76	2	1	$1,04 \cdot 10^5$	0	0
77	2	1	$1,04 \cdot 10^5$	0	0
78	2	1	$1,04 \cdot 10^5$	0	156
79	2	1	$1,04 \cdot 10^5$	230	$2,6 \cdot 10^4$
80	2	1	$1,04 \cdot 10^5$	0	68

Tabla 5: Datos obtenidos en el recuento de UFC en el control positivo (control +), a las 24 horas (24h) y a las 48 horas (48h).

Activación ultrasónica (3) y dejando el irrigante en cámara pulpar (0)

Muestra	Activación Ultrasónica	Cámara Pulpar	Control +	24 horas	48 horas
1	3	0	$2,6*10^6$	10	0
2	3	0	$2,6*10^6$	10	0
3	3	0	$2,6*10^6$	0	50
4	3	0	$2,6*10^6$	0	10
5	3	0	$2,6*10^6$	0	0
6	3	0	$2,6*10^6$	0	0
7	3	0	$1,6*10^4$	0	0
8	3	0	$1,6*10^4$	0	30
9	3	0	$1,6*10^4$	0	0
10	3	0	$1,6*10^4$	0	0
11	3	0	$1,6*10^4$	0	0
12	3	0	$1,6*10^4$	0	0
13	3	0	$1,6*10^4$	0	0
14	3	0	$1,6*10^4$	0	22
15	3	0	550	0	10
16	3	0	550	10	40
17	3	0	550	0	60
18	3	0	550	0	0

19	3	0	550	0	0
20	3	0	550	0	0
21	3	0	550	0	0
22	3	0	$1,96 \cdot 10^7$	0	0
23	3	0	$1,96 \cdot 10^7$	0	0
24	3	0	$1,96 \cdot 10^7$	0	83
25	3	0	$1,96 \cdot 10^7$	0	1050
26	3	0	$1,96 \cdot 10^7$	0	0
27	3	0	$1,96 \cdot 10^7$	0	52
28	3	0	$8,5 \cdot 10^6$	60	0
29	3	0	$8,5 \cdot 10^6$	0	$1,8 \cdot 10^4$
30	3	0	$8,5 \cdot 10^6$	0	0
31	3	0	$8,5 \cdot 10^6$	0	50
32	3	0	$8,5 \cdot 10^6$	0	0
33	3	0	$8,5 \cdot 10^6$	0	0
34	3	0	$1,5 \cdot 10^6$	0	0
35	3	0	$1,5 \cdot 10^6$	10	0
36	3	0	$1,5 \cdot 10^6$	20	220
37	3	0	$1,5 \cdot 10^6$	50	0
38	3	0	$1,5 \cdot 10^6$	0	50
39	3	0	$2 \cdot 10^4$	0	20
40	3	0	$2 \cdot 10^4$	0	10

Tabla 6: Datos obtenidos en el recuento de UFC en el control positivo (control +), a las 24 horas (24h) y a las 48 horas (48h).

Activación ultrasónica (3) y dejando el irrigante en ápice (1)

Muestra	Activación Ultrasónica	Ápice	Control +	24 horas	48 horas
41	3	1	$6,7*10^6$	0	0
42	3	1	$6,7*10^6$	0	0
43	3	1	$6,7*10^6$	0	0
44	3	1	$6,7*10^6$	0	10
45	3	1	$6,7*10^6$	0	50
46	3	1	$6,7*10^6$	0	0
47	3	1	$6,7*10^6$	0	0
48	3	1	$6,7*10^6$	0	0
49	3	1	$6,7*10^6$	0	0
50	3	1	$6,7*10^6$	10	0
51	3	1	$2,03*10^4$	0	0
52	3	1	$2,03*10^4$	0	0
53	3	1	$2,03*10^4$	0	10
54	3	1	$2,03*10^4$	10	0
55	3	1	$2,03*10^4$	0	50
56	3	1	$2,03*10^4$	0	0
57	3	1	$2,03*10^4$	0	20
58	3	1	$2,03*10^4$	0	0
59	3	1	$2,03*10^4$	0	0

60	3	1	$4,7 \cdot 10^4$	0	0
61	3	1	$4,7 \cdot 10^4$	0	0
62	3	1	$4,7 \cdot 10^4$	20	0
63	3	1	$4,7 \cdot 10^4$	0	0
64	3	1	$4,7 \cdot 10^4$	0	0
65	3	1	$4,7 \cdot 10^4$	0	0
66	3	1	$4,7 \cdot 10^4$	0	0
67	3	1	$8,2 \cdot 10^4$	0	0
68	3	1	$8,2 \cdot 10^4$	10	0
69	3	1	$8,2 \cdot 10^4$	0	60
70	3	1	$8,2 \cdot 10^4$	0	0
71	3	1	$8,2 \cdot 10^4$	0	300
72	3	1	$8,2 \cdot 10^4$	0	10
73	3	1	$8,2 \cdot 10^4$	0	40
74	3	1	$3,23 \cdot 10^5$	0	0
75	3	1	$3,23 \cdot 10^5$	0	0
76	3	1	$3,23 \cdot 10^5$	0	0
77	3	1	$3,23 \cdot 10^5$	0	$4,48 \cdot 10^3$
78	3	1	$3,23 \cdot 10^5$	0	0
79	3	1	$3,23 \cdot 10^5$	0	0
80	3	1	$3,23 \cdot 10^5$	0	$1,82 \cdot 10^3$

Tabla 7: - Datos obtenidos en el recuento de UFC en el control positivo (control +), repitiendo el ciclo irrigación/aspiración 1 vez (1 ciclo) y realizando el ciclo 3 veces (3 ciclos). Con Jeringa convencional (1), EndoActivator® (2) y Ultrasonidos (3), en las 2 longitudes del conducto radicular: en cámara (0) y en ápice (1)

Muestra	Técnica	Longitud	Control +	3 Ciclos	1 Ciclo
1	1	0	$2,27 \cdot 10^4$	0	0
2	1	0	$3,29 \cdot 10^5$	70	20
3	1	0	$2 \cdot 10^5$	0	30
4	1	0	300	120	130
5	1	0	$2,3 \cdot 10^4$	1250	1370
6	1	0	$2,4 \cdot 10^4$	200	0
7	1	0	$2 \cdot 10^4$	0	30
8	1	1	$1,22 \cdot 10^4$	0	0
9	1	1	$1,12 \cdot 10^6$	10	10
10	1	1	$3,610^5$	20	20
11	1	1	$4,6 \cdot 10^5$	40	130
12	1	1	$1,8 \cdot 10^6$	60	110
13	2	0	$2,5 \cdot 10^5$	0	1100
14	2	0	$1,8 \cdot 10^5$	0	0
15	2	0	$1,46 \cdot 10^5$	0	10
16	2	0	$9,810^4$	0	0
17	2	0	$8,5 \cdot 10^4$	0	0
18	2	0	$3,1 \cdot 10^4$	0	0

19	2	1	$3,76 \cdot 10^5$	0	0
20	2	1	$1,65 \cdot 10^6$	10	0
21	2	1	$4,2 \cdot 10^5$	40	20
22	2	1	$1,04 \cdot 10^5$	0	300
23	3	0	$2,6 \cdot 10^6$	0	0
24	3	0	$1,6 \cdot 10^4$	0	0
25	3	0	550	0	0
26	3	0	$1,96 \cdot 10^7$	0	0
27	3	0	$8,5 \cdot 10^6$	0	0
28	3	0	$1,5 \cdot 10^6$	0	0
29	3	0	$2 \cdot 10^4$	0	0
30	3	1	$6,7 \cdot 10^6$	0	0
31	3	1	$2,03 \cdot 10^4$	0	0
32	3	1	$4,7 \cdot 10^4$	0	0
33	3	1	$8,2 \cdot 10^4$	0	0
34	3	1	$3,23 \cdot 10^5$	0	0

6.2 Estadística descriptiva

Antes de pasar a exponer la estadística analítica, se presenta en forma de tablas la estadística descriptiva para la población estudiada, expresada en UFC / ml, teniendo como variable la técnica de activación en relación con la longitud de conducto dónde se deposita y se activa el irrigante (TÉCNICA- LONGITUD)

6.2.1 Irrigación con jeringa convencional sin activación en cámara pulpar

		CONTROL POSITIVO	24 HORAS	48 HORAS
N		40	40	40
MEDIA		$1,020 \cdot 10^5$	$1,457 \cdot 10^4$	$1,103 \cdot 10^9$
MEDIANA		$2,4 \cdot 10^4$	15	47,50
DESV. ESTÁNDAR		$1,2034 \cdot 10^7$	$3,3526 \cdot 10^5$	$4,5280 \cdot 10^9$
MÍNIMO		$3 \cdot 10^2$	0	0
MÁXIMO		$3,2 \cdot 10^5$	$1,3 \cdot 10^3$	$2,2 \cdot 10^8$
PERCENTIL	25	$2,2 \cdot 10^4$,00	,00
	75	$2 \cdot 10^5$	65	$2,4 \cdot 10^5$

6.2.2 Irrigación con activación sónica en cámara pulpar

		CONTROL POSITIVO	24 HORAS	48 HORAS
N		40	40	40
MEDIA		$1,075 \cdot 10^5$	2,75	$6,449 \cdot 10^6$
MEDIANA		$9,8 \cdot 10^4$,00	,00
DESV. ESTÁNDAR		$6,8344 \cdot 10^6$	$7,841 \cdot 10^3$	$2,3006 \cdot 10^7$
MÍNIMO		$3,1 \cdot 10^4$	0	0
MÁXIMO		$2,5 \cdot 10^5$	40	$1,2 \cdot 10^6$
PERCENTIL	25	$3,1 \cdot 10^4$,00	,00
	75	$1,4 \cdot 10^5$,00	118,75

6.2.3 Irrigación con activación ultrasónica en cámara pulpar

		CONTROL POSITIVO	24 HORAS	48 HORAS
N		40	40	40
MEDIA		$4,796 \cdot 10^8$	4,25	$4,93 \cdot 10^4$
MEDIANA		$1,5 \cdot 10^6$,00	,00
DESV.ESTÁNDAR		$6,9243 \cdot 10^8$	$1,2586 \cdot 10^4$	$2,8438 \cdot 10^5$
MÍNIMO		$0,5 \cdot 10^3$	0	0
MÁXIMO		$1,9 \cdot 10^7$	60	$1,8 \cdot 10^4$
PERCENTIL	25	$1,6 \cdot 10^4$,00	,00
	75	$8,5 \cdot 10^6$,00	37,50

6.2.4 Irrigación sin activación en ápice

		CONTROL POSITIVO	24 HORAS	48 HORAS
N		40	40	40
MEDIA		$5,390 \cdot 10^5$	27,00	$1,042 \cdot 10^7$
MEDIANA		$4,1 \cdot 10^5$,00	$2,8 \cdot 10^3$
DESV. ESTÁNDAR		$5,1369 \cdot 10^7$	$7,1995 \cdot 10^4$	$2,5109 \cdot 10^7$
MÍNIMO		$1,2 \cdot 10^4$	0	0
MÁXIMO		$1,8 \cdot 10^6$	320	$1,3 \cdot 10^6$
PERCENTIL	25	$9,9 \cdot 10^4$,00	77,50
	75	$9,5 \cdot 10^5$	12,75	$3,4 \cdot 10^4$

6.2.5 Irrigación con activación sónica en ápice

		CONTROL POSITIVO	24 HORAS	48 HORAS
N		40	40	40
MEDIA		$6,375 \cdot 10^5$	$1,593 \cdot 10^4$	$2,480 \cdot 10^5$
MEDIANA		$3,98 \cdot 10^5$,00	67,50
DESV. ESTÁNDAR		$6,0456 \cdot 10^7$	$6,8320 \cdot 10^5$	$6,2858 \cdot 10^5$
MÍNIMO		$1,04 \cdot 10^5$	0	0
MÁXIMO		$1,6 \cdot 10^6$	$3,7 \cdot 10^3$	$2,6 \cdot 10^4$
PERCENTIL	25	$1,7 \cdot 10^5$,00	,00
	75	$1,3 \cdot 10^6$,00	$5,8 \cdot 10^4$

6.2.6 Irrigación con activación ultrasónica en ápice

		CONTROL POSITIVO	24 HORAS	48 HORAS
N		40	40	40
MEDIA		$1,758 \cdot 10^8$	1,25	$1,712 \cdot 10^4$
MEDIANA		$8,2 \cdot 10^4$,00	,00
DESV.ESTÁNDAR		$2,8911 \cdot 10^8$	4,043	$7,5635 \cdot 10^4$
MÍNIMO		$2,03 \cdot 10^4$	0	0
MÁXIMO		$6,7 \cdot 10^6$	20	$4,4 \cdot 10^3$
PERCENTIL	25	$4,7 \cdot 10^4$,00	,00
	75	$5,1 \cdot 10^6$,00	10

6.3 Estadística Analítica

6.3.1 Eficacia en la eliminación del *Enterococcus faecalis* de la combinación de hipoclorito sódico con ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) sin activación y con activación

En primer lugar, los datos fueron sometidos al análisis bidimensional de Friedman de varianza por rangos para muestras relacionadas, para determinar la capacidad de eliminación de la combinación NaOCl 5,25% + EDTA 17% frente al *E. f.*

Los valores $P \leq 0,05$ fueron considerados estadísticamente significativos

*6.3.1.1 Acción frente al *Enterococcus faecalis* de hipoclorito sódico más ácido etilendiaminotetraacético sin activación en cámara pulpar*

Hipótesis nula (H_0): La distribución de los datos en el control positivo, a las 24 horas y a las 48 horas es el mismo cuando se emplea NaOCl + EDTA sin activación en la cámara pulpar.

Se rechaza la H_0 con una $P < 0,001$

Existen diferencias significativas entre los tres grupos. (Tabla 1)

Para determinar entre qué pareja existen diferencias significativas realizamos el test a posteriori, método de Bonferroni y se observa que existen diferencias significativas entre las tres comparaciones pareadas,

Muestra1-Muestra 2	Significación
24h-48h	,008
Control +-24h	<0,001
Control + - 48h	,008

Tabla 1: Test de Friedman. Jeringa Convencional Sin Activación Cámara Pulpar

Encontramos el mayor número de colonias en el control positivo con un rango medio de 2,68, seguido de las 48 horas, rango medio de 2,00 y por último a las 24 horas con un rango de 1,32. Ver diagrama de barras (Gráfica 1)

6.3.1.2 *Acción frente al Enterococcus faecalis de hipoclorito sódico+ EDTA sin activación en ápice*

Observamos el mismo resultado.

Hipótesis nula (H0): Las distribuciones del control positivo, a las 24 horas y a las 48 horas es el mismo. Se rechaza la H0:

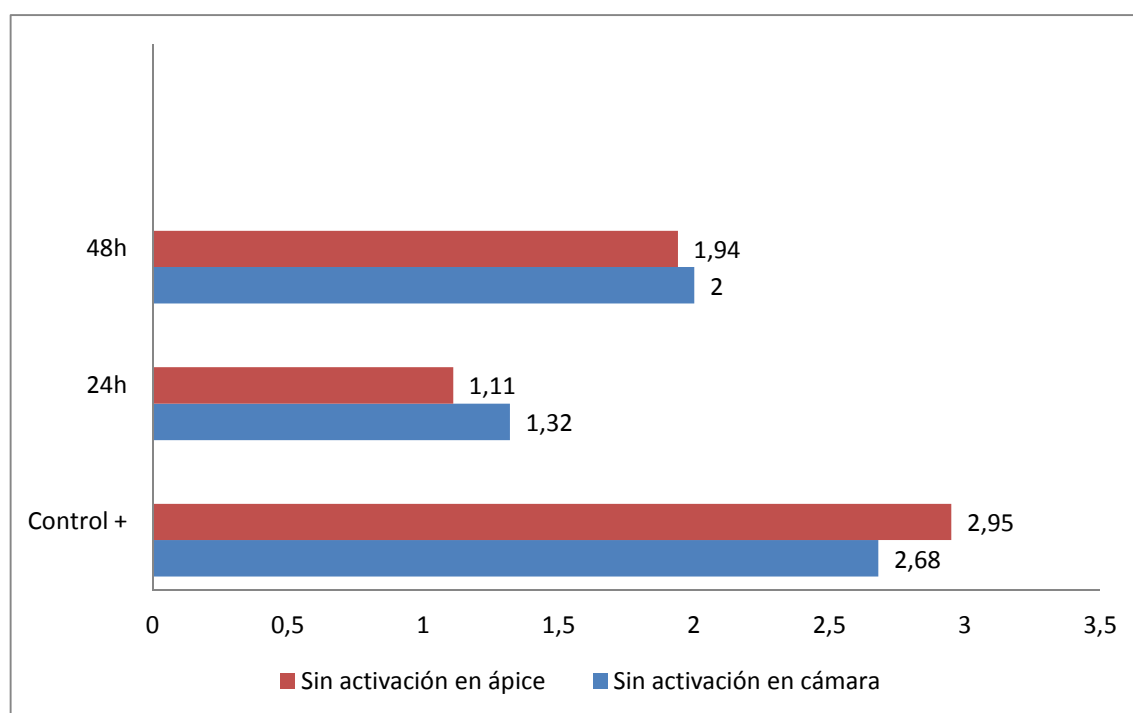
Existen diferencias significativas entre los tres $P < 0,001$. (Tabla 2)

Aplicamos el método Bonferroni para determinar entre qué parejas existen diferencias y vemos que hay diferencias significativas entre las tres parejas

Muestra1-Muestra 2	Significación
24h-48h	<0,001
Control + - 24h	<0,001
Control + - 48h	<0,001

Tabla 2: Test de Friedman. Jeringa Convencional Sin Activación en Ápice

Se observa el mayor número de colonias en el control positivo con un rango medio de 2,95, después a las 48 horas 1,94 y el menor en 24 horas con rango medio 1,11. Ver diagrama de barras (Gráfica 1)



Gráfica 1: Diagrama de Barras: Eliminación de *E. faecalis* por la acción de NaOCl + EDTA con jeringa convencional sin activación en cámara pulpar y en ápice

6.3.1.3 *Acción frente al Enterococcus faecalis de hipoclorito sódico + EDTA con activación sónica en cámara pulpar*

Hipótesis nula (H0): La distribución de los resultados en el control positivo, a las 24 horas y a las 48 horas es el mismo.

Se rechaza la hipótesis nula

Existen diferencias significativas entre los tres grupos $P < 0,001$.

Se realiza la comparación por parejas con el método Bonferroni y observamos que existen diferencias significativas entre Control Positivo-24 h y Control Positivo – 48 h, pero no existen diferencias significativas entre 24 h - 48 horas. (Tabla 3)

Muestra1-Muestra 2	Significación
24h-48h	,353
Control + - 24h	<0,001
Control + - 48h	<0,001

Tabla 3: Test de Friedman. Activación Sónica en cámara pulpar

Existe un mayor número de bacterias en el control positivo con un rango muestral promedio 2,90, después en 48 horas con rango muestral de 1,72 y por último 24 horas con rango muestral 1,38. Ver diagrama de barras (Gráfico 2)

6.3.1.4 *Acción frente al Enterococcus faecalis de Hipoclorito sódico + EDTA con activación sónica en ápice*

Hipótesis nula (H0): La distribución de los resultados en el control positivo, a las 24 horas y a las 48 horas es el mismo.

Al realizar el test de Friedman obtenemos una $P < 0,001$

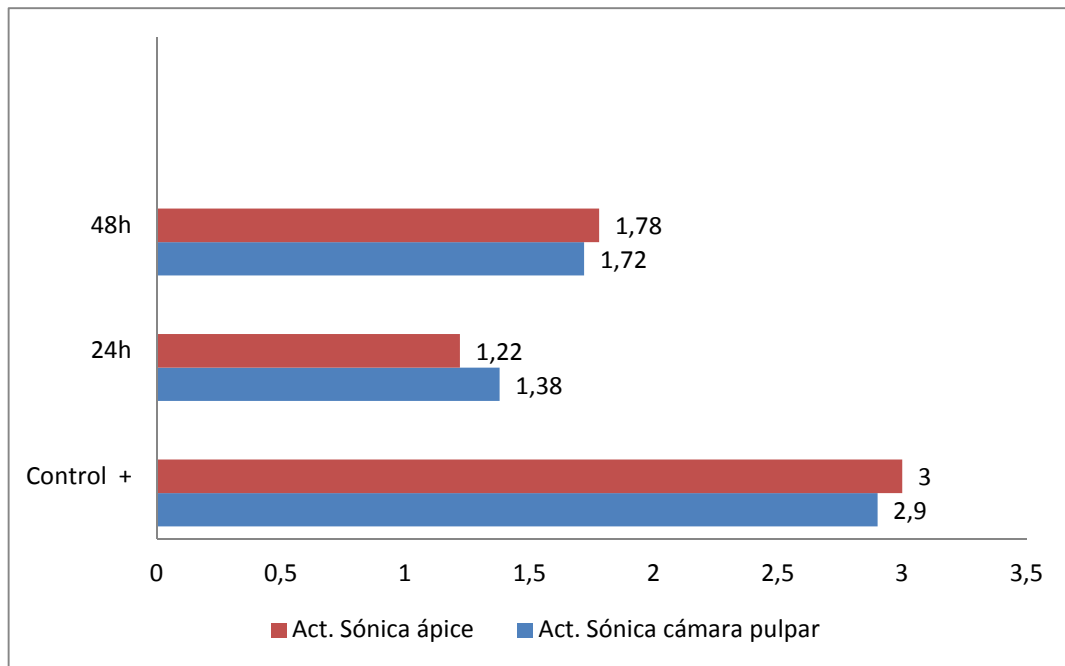
Existen diferencias significativas entre los tres grupos.

Aplicamos el método Bonferroni y vemos que existen diferencias significativas entre los tres pareados

Muestra1-Muestra 2	Significación
24h-48h	,042
Control + - 24h	<0,001
Control + - 48h	<0,001

Tabla 4: Test de Friedman. Activación Sónica en ápice

Existe mayor número de colonias en control positivo, con rango medio de 3,00, después en 48 horas 1,78 y menor número en 24 horas con rango promedio de 1,22 (Gráfico 2)



Gráfica 2: Diagrama de Barras: Eliminación de *E. f* por la acción de NaOCl + EDTA con Activación Sónica en cámara pulpar y en ápice

6.3.1.5 Acción frente a *Enterococcus faecalis* de hipoclorito sódico + EDTA con activación ultrasónica en cámara pulpar

Hipótesis Nula: (H0): la distribución de los resultados en el recuento de UFC en el control positivo, a las 24 horas y a las 48 horas es el mismo.

Se rechaza la hipótesis nula.

Existen diferencias significativas entre las tres técnicas $P < 0,001$

Se realiza el test a posteriori, (método de Bonferroni) y se observa que existen diferencias significativas entre las comparaciones pareadas, control positivo-24 horas, control positivo-48 horas pero no existen diferencias significativas entre 24 horas-48 horas,

Muestra1-Muestra 2	Significación
24h-48h	,656
Control + - 24h	<0,001
Control + - 48h	<0,001

Tabla 5: Test de Friedman Activación Ultrasónica en Cámara Pulpar

Encontramos el número mayor de colonias en el control positivo con un rango muestral promedio de 3,00, a las 48 horas 1,64 de rango muestral promedio y en último lugar a las 24 horas un rango muestral de 1,36. Ver diagrama de barras (Gráfica 3)

6.3.1.6 *Acción frente al Enterococcus faecalis de Hipoclorito sódico + EDTA con Activación Ultrasónica en Ápice*

Hipótesis nula (H0): La distribución de los resultados entre control positivo, 24 horas y 48 horas es el mismo.

Se rechaza la hipótesis nula (H0)

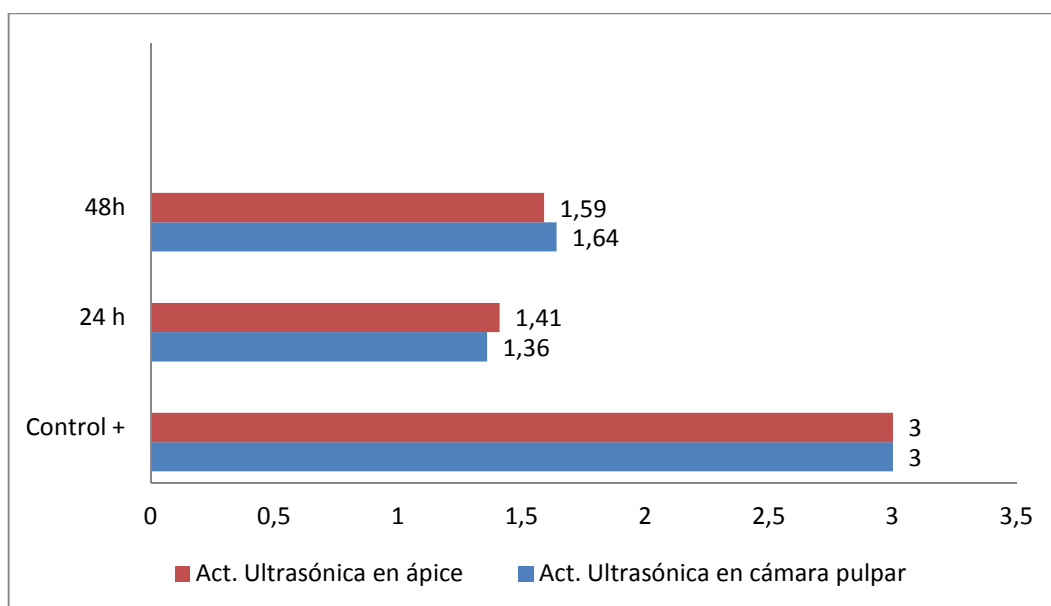
Existen diferencias significativas con una $P < 0,001$

Se realiza por tanto el test a posteriori y se aprecia que existen diferencias significativas entre la pareja control positivo-24 horas y control positivo-48 horas, no existiendo diferencias significativas entre la pareja 24 horas-48 horas. (Tabla 6)

Muestra1-Muestra 2	Significación
24h-48h	1,000
Control + - 24h	<0,001
Control + - 48h	<0,001

Tabla 6: Test de Friedman Activación Ultrasónica en Ápice

El rango medio del control positivo es de 3,00 y después el recuento de 48 horas con un rango medio de 1,59 y a las 24 horas un rango medio de 1,41. (Gráfica 3)



Gráfica 3: Diagrama de Barras: Eliminación de *E. f* por la acción de NaOCl + EDTA con Activación Ultrasónica en cámara pulpar y en ápice

6.4 Eficacia en la eliminación de *Enterococcus faecalis* comparando 3 técnicas de irrigación/activación

6.4.1 Eficacia en la eliminación de *Enterococcus faecalis* de las 3 técnicas en cámara pulpar

Para comparar la eficacia en la eliminación del *E. f* entre las tres técnicas a nivel de cámara pulpar, se realizaron Pruebas de Kruskal- Wallis para muestras independientes y como test a posteriori el método de Bonferroni

6.4.1.1 A las 24 horas

Hipótesis nula (H0): la distribución de las colonias a las 24 horas es la misma en las tres técnicas.

Se rechaza la hipótesis nula

Existen diferencias significativas con una $P < 0,001$

Y al realizar el método Bonferroni vemos que existen diferencias significativas entre las parejas Sin activación-activación sónica y sin activación-activación ultrasónica, pero no existen diferencias significativas entre activación sónica-activación ultrasónica. (Tabla 7)

Muestra1-Muestra 2	Significación
Sónica-Ultrasónica	1,000
Sin activación-Sónica	<0,001
Sin activación-ultrasónica	<0,001

Tabla 7: Test de Kruskal-Wallis. Comparación 3 técnicas de irrigación/activación en cámara pulpar

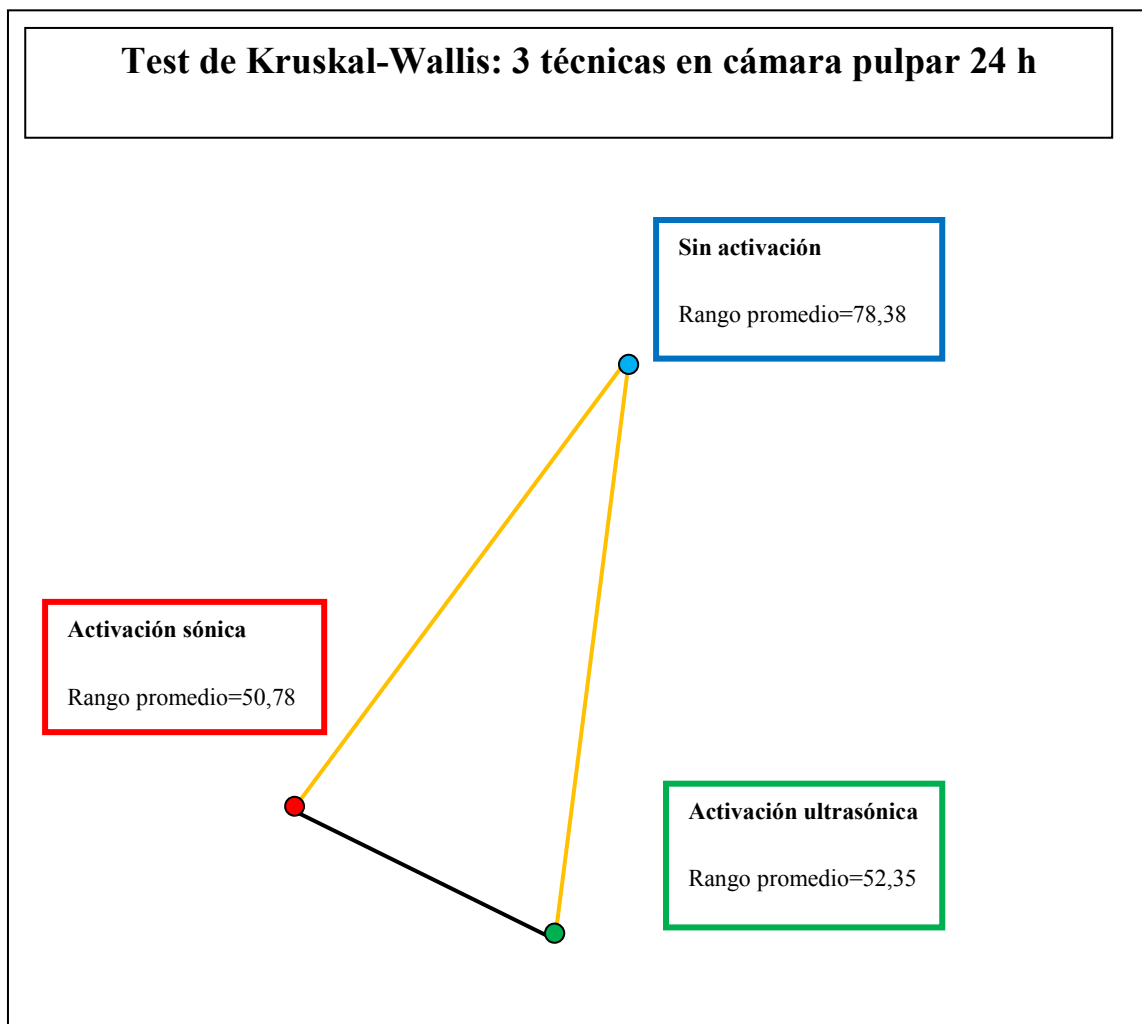


Gráfico 4: Test Kruskal-Wallis 3 técnicas de irrigación/activación en cámara pulpar 24 horas

Como se puede apreciar en el gráfico 4 de comparación por parejas vemos que el mayor número de colonias lo encontramos en la técnica de jeringa convencional sin activación, seguido de activación ultrasónica y por último el que representa el menor número de colonia de *E. f* es la activación sónica sin diferencias significativas entre estos dos últimos.

6.4.1.2 A las 48 Horas

Hipótesis nula (H0): La distribución del número de colonias a las 48 horas es la misma par las tres técnicas:

Se rechaza la hipótesis nula

Existen diferencias significativas entre las tres. $P=0,014$.

Realizamos entonces el método de Bonferroni: Advertimos que existen diferencias significativas entre la pareja activación ultrasónica-sin activación, pero no existen diferencias significativas entre las parejas ultrasónica-sónica y sónica-sin activación. (Tabla 8)

Muestra1-Muestra 2	Significación
Sónica-Ultrasónica	1,000
Sin activación-Ultrasónica	,014
Sin. activación-Sónica	,154

Tabla 8: Test de Kruskal-Wallis. Comparación 3 técnicas de irrigación/activación en cámara pulpar a las 48 horas

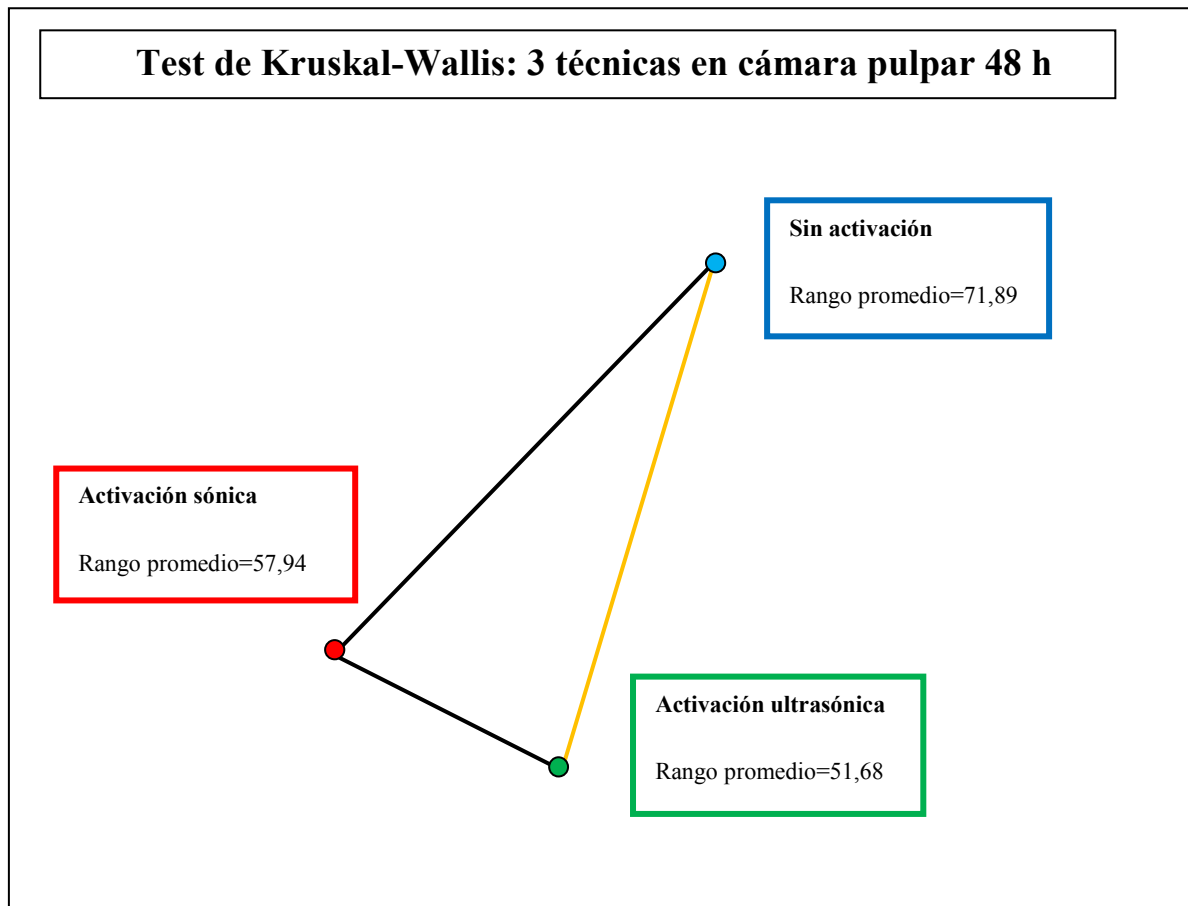


Gráfico 5: Test Kruskal-Wallis 3 técnicas de irrigación/activación en cámara pulpar

En el gráfico 5 se determina la existencia de mayor número de bacterias en primer lugar en técnica sin activación, seguido de activación sónica y el que presenta menor número de bacterias son los ultrasonidos

6.4.2 Eficacia en la eliminación de *Enterococcus faecalis* de las 3 técnicas en ápice

Para comparar la eficacia en la eliminación del *E. f* entre las tres técnicas a nivel de ápice, se realizaron Pruebas de Kruskal- Wallis para muestras independientes y como test a posteriori el método de Bonferroni

6.4.2.1 A las 24 Horas

Hipótesis Nula (H0): La distribución de las colonias a las 24 horas son las mismas en las tres técnicas utilizadas.

Aceptamos hipótesis nula con una $P=0,116$

No existen diferencias significativas entre las tres técnicas.

No existen diferencias significativas en el recuento de las UFC a las 24 horas después de realizar la irrigación con jeringa convencional sin activación, irrigación y activación sónica e irrigación y activación ultrasónica.

Test de Kruskal-Wallis: 3 técnicas en ápice 24 h

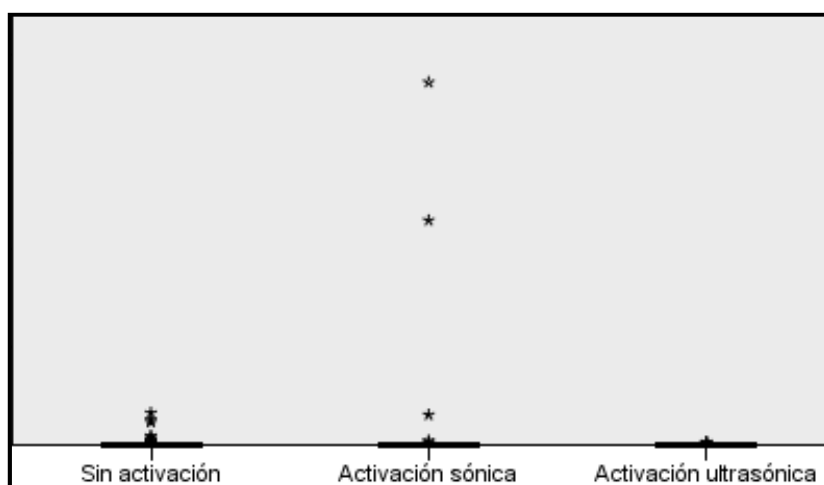


Gráfico 6: Test Kruskal-Wallis 3 técnicas de irrigación/activación en ápice a 24 horas

6.4.2.2 A las 48 horas

Hipótesis Nula (H0): La distribución del número de colonias a las 48 horas es el mismo para las tres técnicas.

Se rechaza la hipótesis nula.

Existen diferencias significativas entre las tres, $P < 0,001$.

En la comparación por parejas se aprecia que existen diferencias significativas entre las tres parejas

Muestra1-Muestra 2	Significación
Sónica - Ultrasónica	,008
Sin activación - Ultrasónica	,000
Sin activación - Sónica	,003

Tabla 10: Test de Kruskal-Wallis. Comparación 3 técnicas de irrigación/activación en ápice a las 48 horas

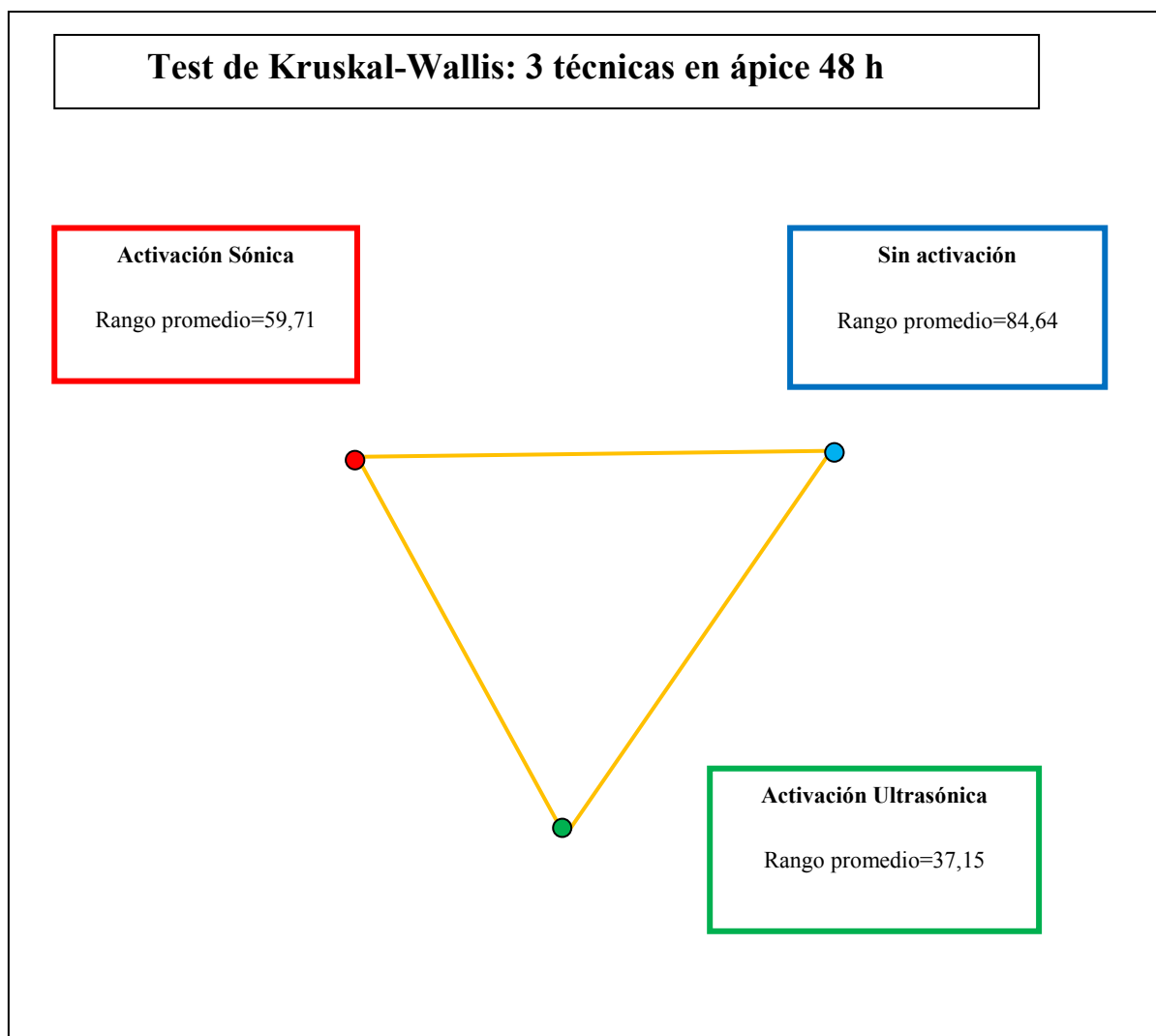


Gráfico 7: Test Kruskal-Wallis 3 técnicas de irrigación/activación en ápice a las 48 horas

6.5 Comparación de la eficacia en la eliminación del *Enterococcus faecalis* de cada técnica de irrigación dependiendo de la longitud del conducto

6.5.1 Irrigación sin activación

Para estudiar esta comparación los datos se exponen a la Prueba U de Mann-Whitney para muestras independientes

6.5.1.1 A las 24 Horas

Hipótesis nula (H0): La distribución del recuento de las colonias a las 24 horas es el mismo en las 2 longitudes del conducto.

Rechazamos la hipótesis nula

Existen diferencias significativas entre cámara pulpar y ápice $P=0,007$.

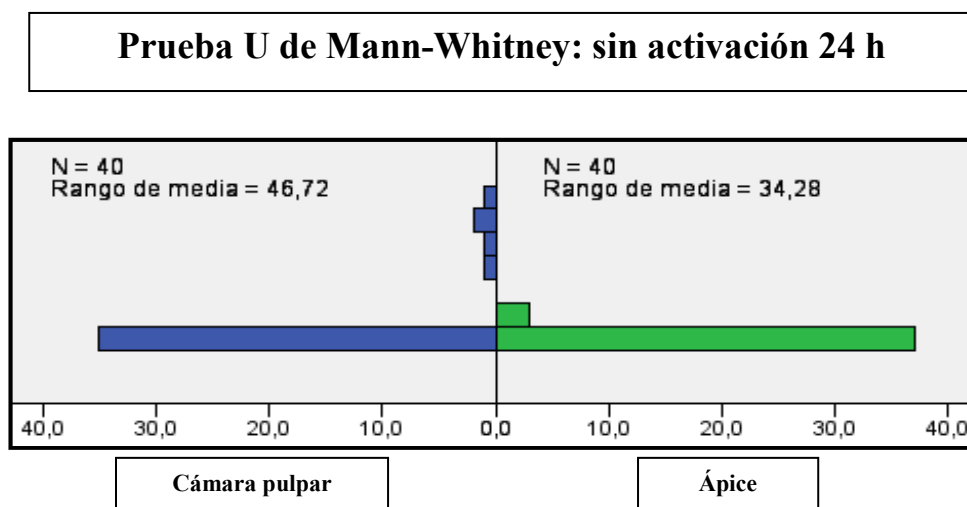


Gráfico 8: Prueba U Mann-Whitney: Sin Activación a las 24 horas

Existen diferencias significativas entre el número de bacterias en cámara pulpar con rango de media de 46,72 y en ápice rango de media de 34,28 a las 24 horas, después de haber depositado el irrigante en cámara sin activarlo. (Gráfico 8)

6.5.1.2 A las 48 horas

Hipótesis nula (H0): La distribución del número de colonias a las 48 horas después de la llevar a cabo la irrigación sin activación es la misma en cámara pulpar y en ápice.

Por tanto, conservamos la hipótesis nula. $P=0,150$

No existen diferencias significativas entre el número de colonias en cámara pulpar que en ápice a las 48 horas después de haber realizado la irrigación sin activación: (Gráfico 9)

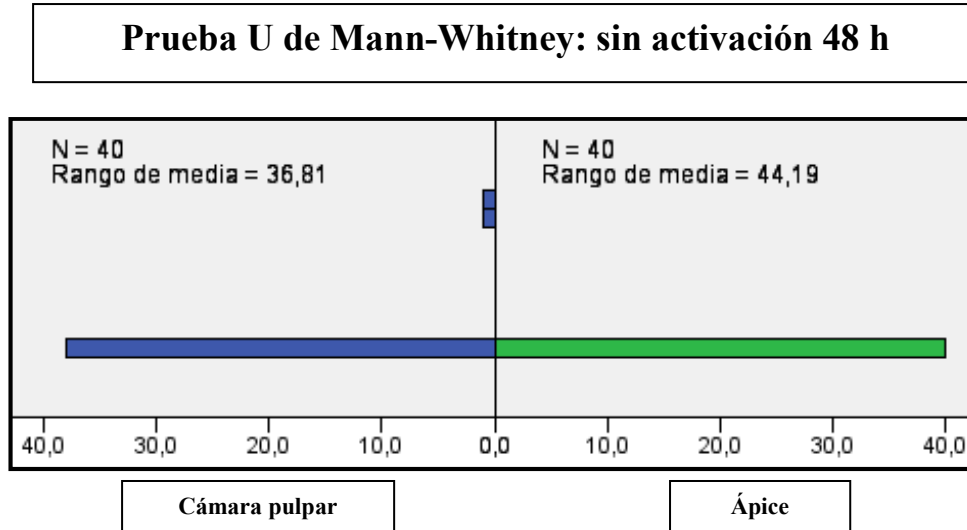


Gráfico 9: Prueba U Mann-Whitney: Sin Activación a las 48 horas

6.5.2 Irrigación sónica

6.5.2.1 *A las 24 Horas*

Hipótesis nula (H0): La distribución del recuento de UFC a las 24 horas después de haber irrigado y activado con activación sónica, es la misma en cámara pulpar que en ápice.

Conservamos la hipótesis nula con una $P = 0,898$

No existen diferencias significativas entre los dos grupos. (Gráfico 10)

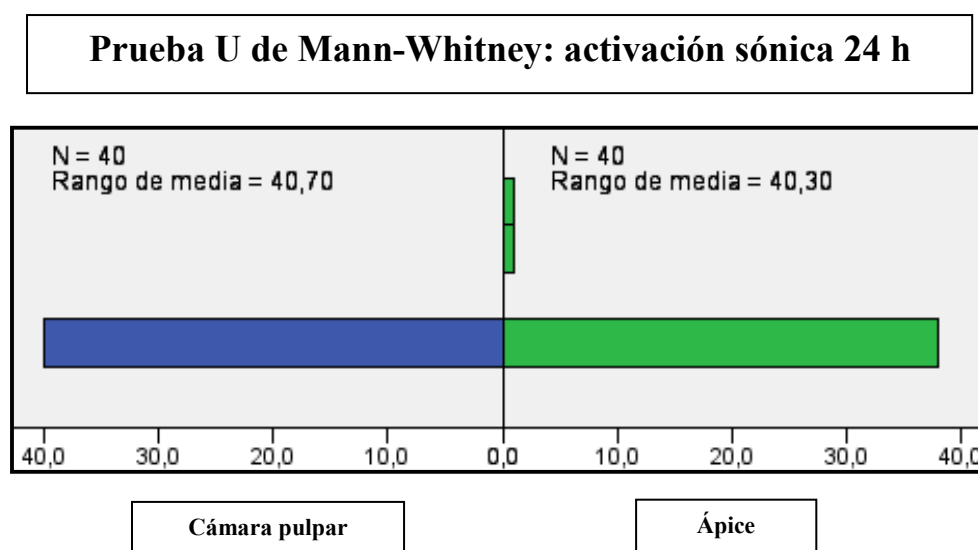


Gráfico 10: Prueba U Mann-Whitney: Activación Sónica a las 24 horas

6.5.2.2 A las 48 horas

No existen diferencias significativas entre los grupos. $P=0,147$

Conservamos la hipótesis nula (H_0): la distribución de los resultados del recuento de UCF a las 48 horas después de haber irrigado con activación sónica son los mismos en cámara pulpar como en ápice. (Gráfico 11)

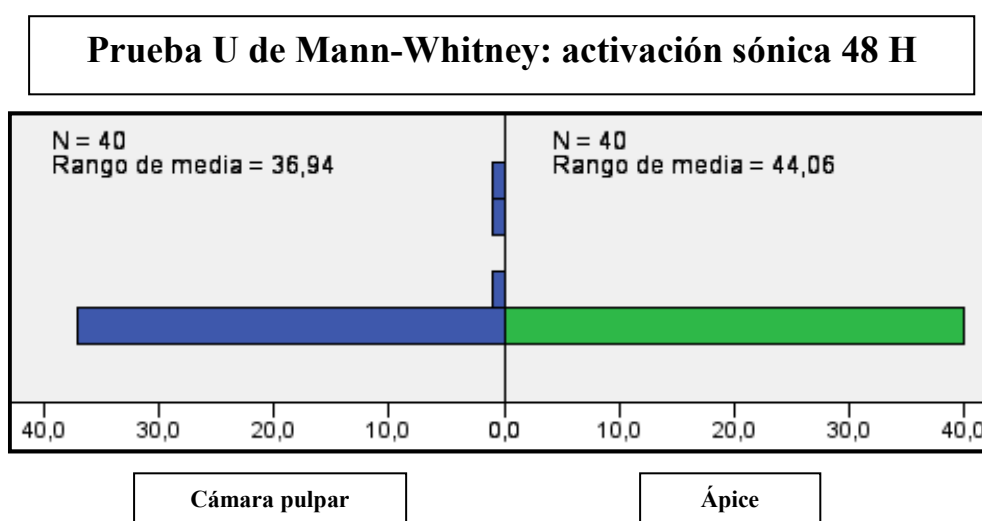


Gráfico 11: Prueba U Mann-Whitney: Activación sónica a las 48 horas

6.5.3 Irrigación con activación ultrasónica

6.5.3.1 A las 24 horas

Hipótesis nula (H_0): La distribución de los resultados a las 24 horas es la misma en cámara pulpar y en ápice.

Conservamos la hipótesis nula. $P = 0,307$

No existen diferencias significativas entre las dos longitudes del conducto radicular. (Gráfico 12)

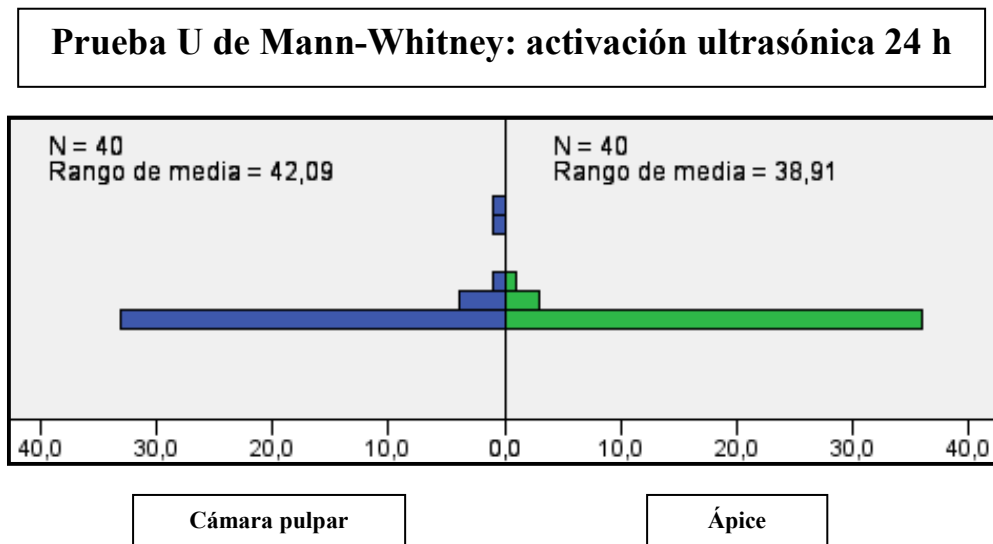


Gráfico 12: Prueba U Mann-Whitney: Activación Ultrasónica a las 24 horas

6.5.3.2 A las 48 horas

Hipótesis nula (H_0): La distribución de los resultados a las 48 horas es la misma en cámara pulpar y en ápice.

Conservamos la hipótesis nula con una $P = 0,248$

No existen diferencias significativas entre el recuento de UFC a las 48 horas después de irrigar y activar con ultrasonidos en cámara y en ápice. Gráfico 13

Prueba U de Mann-Whitney: Activación Ultrasónica 48h

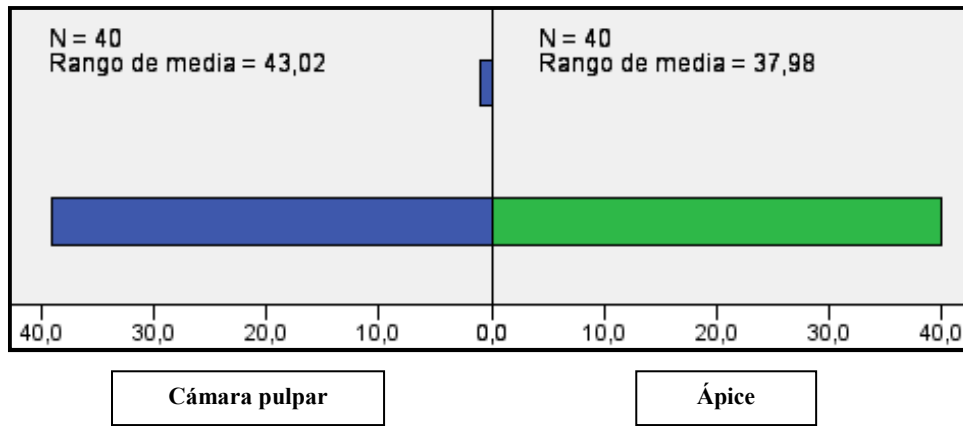


Gráfico 13: Prueba U Mann-Whitney: Activación Ultrasónica a las 48 horas

6.6 Eficacia en la eliminación del *Enterococcus faecalis* de las tres técnicas de irrigación estudiadas al repetir el ciclo irrigación/activación 3 veces

Para determinar si se produce un efecto acumulativo en la eliminación del *E. f* con estas técnicas de irrigación repitiendo el lavado final 3 veces, los datos obtenidos los sometemos a Pruebas de Kruskal-Wallis para muestras independientes y como test a posteriori el método de Bonferroni.

6.6.1 Efecto acumulativo en la eliminación de *Enterococcus faecalis* al realizar 3 ciclos de irrigación/aspiración Sin activación en cámara pulpar y ápice

6.6.1.1 En Cámara pulpar

Hipótesis nula (H0): la distribución del número de colonias en control positivo, realizando el ciclo 1 vez o 3 veces es el mismo.

Se rechaza la Hipótesis nula con una $P= 0,002$

Existen diferencias significativas.

Para determinar entre qué pareja existen esas diferencias realizamos el test a posteriori, método de Bonferroni, viendo que existen diferencias significativas entre la pareja control positivo- 1 ciclo y control positivo-3 ciclos. Pero no existen diferencias significativas entre la pareja 1 ciclo-3 ciclos (Tabla 11)

Muestra1-Muestra 2	Significación
3 ciclos-1 ciclo	1,000
Control pos - 3 ciclo	,004
Control pos - 1 ciclos	,016

Tabla 11: Test de Kruskal-Wallis. Repetición 3 ciclos. Sin activación en cámara pulpar

El número de colonias en el control positivo es mayor con un rango medio de 17,7 después en 1 ciclo con rango medio de 8,36 y el menor número de colonias se presenta en 3 ciclos con un rango medio de 7,07 (Ver Gráfico 14)

6.6.1.2 *En ápice*

Hipótesis nula (H0): la distribución del número de colonias en control positivo, realizando el ciclo 1 vez o 3 veces es el mismo.

Se rechaza la Hipótesis nula con una $P = 0,009$

Existen diferencias significativas.

Realizamos el test a posteriori, método de Bonferroni, viendo que existen diferencias significativas entre la pareja control positivo- 1 ciclo y control positivo-3 ciclos. Pero no existen diferencias significativas entre la pareja 1 ciclo-3 ciclos (Tabla 12)

Muestra1-Muestra 2	Significación
3 ciclos-1 ciclo	1,000
Control pos-3 ciclo	,015
Control pos-1 ciclos	,036

Tabla 12: Test de Kruskal-Wallis. Repetición 3 ciclos. Sin activación en ápice

El número de colonias en el control positivo es mayor con un rango medio de 13, después en 1 ciclo con rango medio de 5,90 y el menor número de colonias se presenta en 3 ciclos con un rango medio de 5,10 (Ver Gráfico 14)

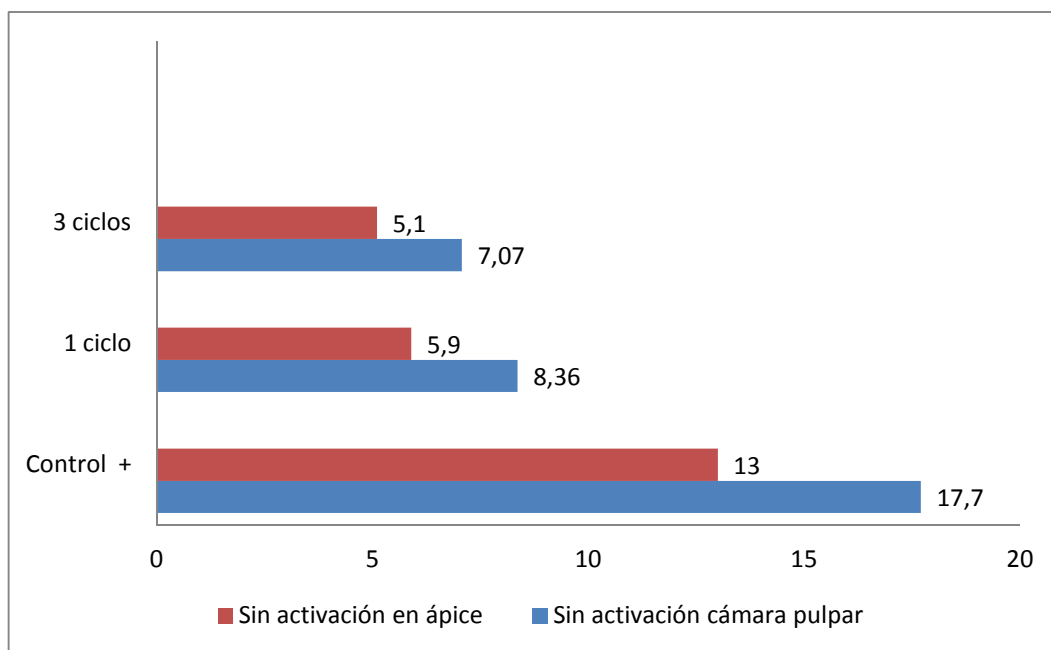


Gráfico 14: Test de Kruskal-Wallis. Repetición 3 ciclos. Sin activación en cámara pulpar y ápice

6.6.2 Efecto acumulativo en la eliminación de *Enterococcus faecalis* al realizar 3 ciclos de irrigación/aspiración con activación sónica en cámara pulpar y ápice

6.6.2.1 En Cámara pulpar

Hipótesis nula (H0): la distribución del número de colonias en control positivo, realizando el ciclo 1 vez o 3 veces es el mismo.

Se rechaza la Hipótesis nula con una $P = 0,001$

Existen diferencias significativas.

Con el método de Bonferroni, vemos entre qué pareja existen esas diferencias significativas, habiendo diferencias entre la pareja control positivo- 1 ciclo y control positivo-3 ciclos. Pero no existen diferencias significativas entre la pareja 1 ciclo-3 ciclos (Tabla 13)

Muestra1-Muestra 2	Significación
3 ciclos-1 ciclo	1,000
Control pos-3 ciclos	,001
Control pos-1 ciclo	,013

Tabla 13: Test de Kruskal-Wallis. Repetición 3 ciclos. Activación Sónica en cámara pulpar

El número de colonias en el control positivo es mayor con un rango medio de 15,50 después en 1 ciclo con rango medio de 7,50 y el menor número de colonias se presenta en 3 ciclos con un rango medio de 5,50 (Ver Gráfico 14).

6.6.2.2 *En Ápice*

Hipótesis nula (H0): la distribución del número de colonias en control positivo, realizando el ciclo 1 vez o 3 veces es el mismo.

Se rechaza la Hipótesis nula con una $P = 0,021$

Existen diferencias significativas.

Aplicamos Bonferroni y vemos entre qué pares comparados existen las diferencias significativas. Y se observan diferencias significativas en la pareja control-positivo -3 ciclos pero no existen diferencias entre la pareja Control positivo- 1 ciclo y la pareja 3 ciclos-1 ciclo. (Tabla 14)

Muestra1-Muestra 2	Significación
3 ciclos-1 ciclo	1,000
Control pos-3 ciclos	,038
Control pos-1 ciclo	,065

Tabla 14: Test de Kruskal-Wallis. Repetición 3 ciclos. Activación Sónica en ápice

El número de colonias en el control positivo es mayor con un rango medio de 10,50 después en 1 ciclo con rango medio de 4,75 y el menor número de colonias se presenta en 3 ciclos con un rango medio de 4,25 (Ver Gráfico 14).

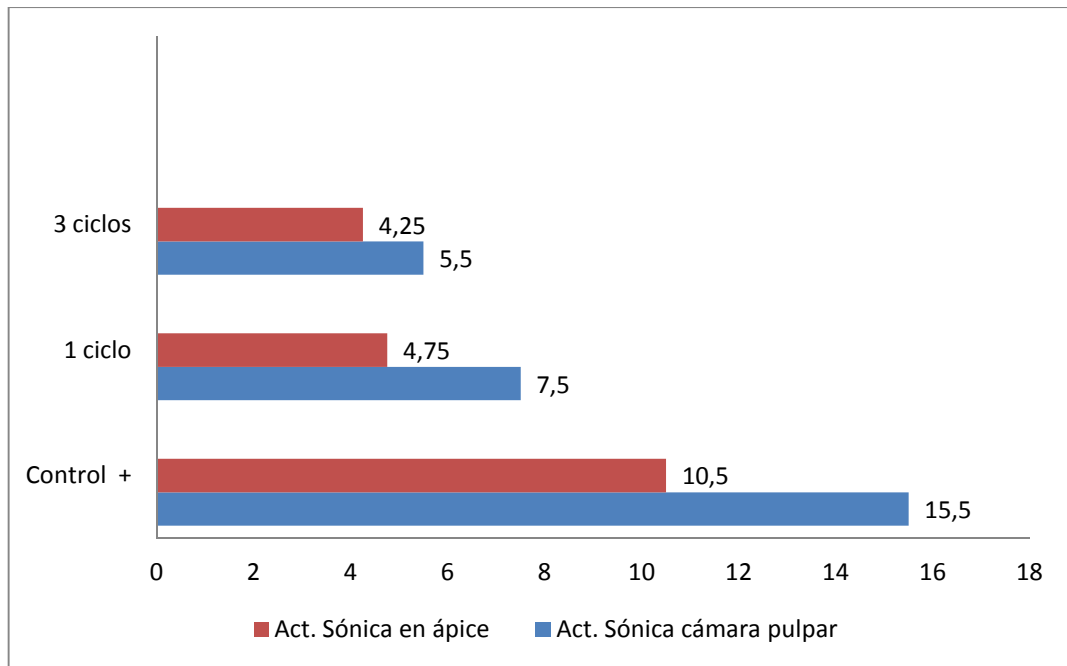


Gráfico 14: Test de Kruskal-Wallis. Repetición 3 ciclos. Activación Sónica en cámara pulpar y ápice

6.6.3 Efecto acumulativo en la eliminación de *Enterococcus faecalis* al realizar 3 ciclos de irrigación/aspiración con activación ultrasónica en cámara pulpar y ápice

6.6.3.1 En Cámara pulpar

Hipótesis nula (H0): la distribución del número de colonias en control positivo, realizando el ciclo 1 vez o 3 veces es el mismo.

Se rechaza la hipótesis nula con una $P < 0,001$

Existen diferencias significativas.

Aplicamos método de Bonferroni, y vemos que existen diferencias significativas entre la pareja control positivo- 1 ciclo y control positivo-3 ciclos. Pero no existen diferencias significativas entre la pareja 1 ciclo-3 ciclos (Tabla 15)

Muestra1-Muestra 2	Significación
3 ciclos-1 ciclo	1,000
Control pos-3 ciclos	<0,001
Control pos-1 ciclo	<0,001

Tabla 15: Test de Kruskal-Wallis. Repetición 3 ciclos. Activación Ultrasónica en cámara pulpar

El número de colonias en el control positivo es mayor con un rango medio de 18, el rango medio de 1 ciclo y 3 ciclos de 7,50 (Ver Gráfico 15).

6.6.3.2 *En Ápice*

Hipótesis nula (H_0): la distribución del número de colonias en control positivo, realizando el ciclo 1 vez o 3 veces es el mismo.

Se rechaza la hipótesis nula con una $P=0,001$

Existen diferencias significativas.

Aplicamos método de Bonferroni, y vemos que existen diferencias significativas entre la pareja control positivo- 1 ciclo y control positivo-3 ciclos. Pero no existen diferencias significativas entre la pareja 1 ciclo-3 ciclos (Tabla 16)

Muestra1-Muestra 2	Significación
3 ciclos-1 ciclo	1,000
Control pos-3 ciclos	,005
Control pos-1 ciclo	,005

Tabla 16: Test de Kruskal-Wallis. Repetición 3 ciclos. Activación Ultrasónica en ápice

El número de colonias en el control positivo es mayor con un rango medio de 13, el rango medio de 1 ciclo y 3 ciclos de 5,50 (Ver Gráfico 15).

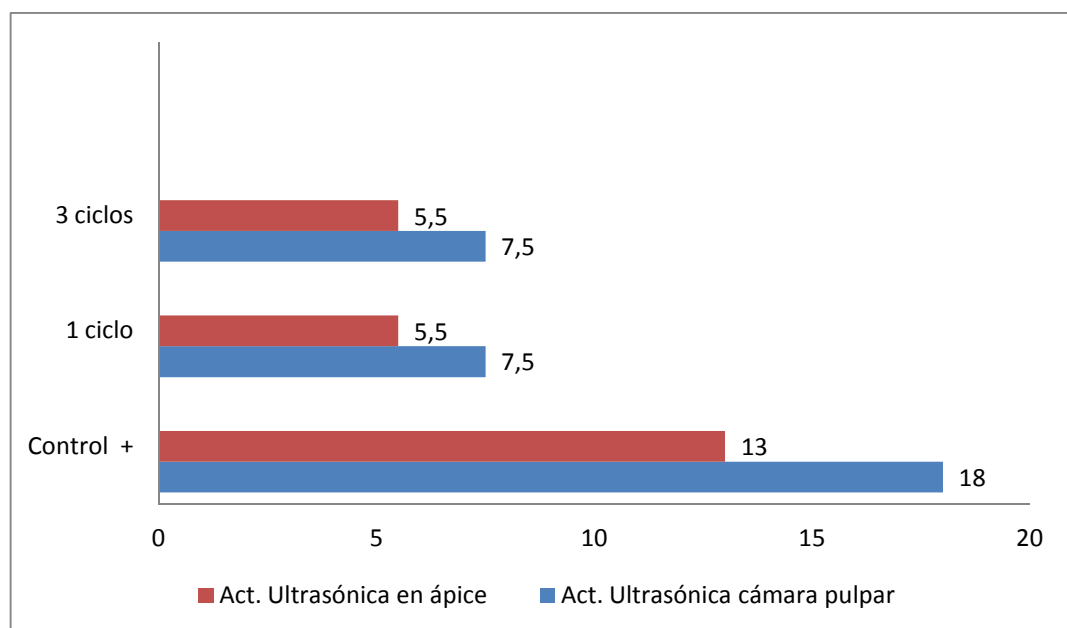


Gráfico 15: Test de Kruskal-Wallis. Repetición 3 ciclos. Activación Sónica en cámara pulpar y ápice

7 Discusión

DISCUSIÓN

El estudio realizado se basa en la capacidad que tienen el hipoclorito de sodio combinado con el ácido etilendiaminotetraácetico (EDTA), con o sin activación, para eliminar las colonias de *Enterococcus faecalis*.

La discusión se presenta atendiendo en primer lugar al material y método y en segundo lugar a los resultados obtenidos tras la realización del estudio.

7.1 Material y Método

7.1.1 Selección y preparación de los dientes

Para el presente estudio se utilizaron 304 dientes monorradiculares superiores e inferiores y no se discriminó entre diferentes grupos dentarios.

El criterio de elección fue presentar un único conducto radicular, comprobándose con exploración directa y radiográfica, a diferencia de autores como Harrison y cols (79) que utilizaron premolares inferiores, raíces distales de primeros molares inferiores y raíces palatinas de primeros molares superiores. O Lucas y cols que utilizaron exclusivamente caninos superiores e inferiores (238). Huang y cols utilizaron dientes anteriores superiores y premolares inferiores (171).

La mayoría de los autores, como Bhuva y cols (239), Wiseman y cols (240) y Ling Sue (241), realizan un corte transversal en la unión amelocementaria eliminando la corona clínica, obteniendo así todas las raíces a una longitud estandarizada.

Nosotros, al igual que otros autores como Schimtt y cols (22) pretendíamos en nuestro estudio buscar el modelo más próximo a las condiciones clínicas, por eso

preferimos no decoronar los dientes buscando la situación más parecida a la realidad, dientes con su corona y aperturas endodónticas acordes con su grupo dentario.

En cuanto a la instrumentación de los conductos radiculares, el calibre apical y la conicidad del conducto influyen en la actividad de la solución irrigadora.

A mayor calibre mayor limpieza, pero también mayor peligro de ocasionar transporte apical.

Brunson y cols consideran suficiente un calibre 40/04. (242)

La necesidad de ampliar el conducto radicular para mejorar la eficacia de irrigación fue reconocida por Grossman (95).

Se ha descrito que la irrigación con jeringa es menos efectiva cuando el conducto no se ensancha hasta un calibre de 040 en el ápice (243, 244).

Los datos del estudio de Falk y Sedgley (243) mostraron que la eficacia de la irrigación era significativamente más reducida en conductos preparados hasta un calibre 35 comparados con conductos preparadas hasta un 60, pero sin ninguna ventaja cuando el conducto era ensanchado hasta 75.

Por lo tanto, los clínicos deben equilibrar la necesidad de ampliación del conducto para facilitar la entrada de los irrigantes y las consecuencias negativas de la reducción en grosor de la dentina radicular y debilitamiento de la estructura de la raíz

En este estudio utilizamos Protaper Universal hasta F2, considerando que es un calibre apical y una conicidad radicular suficiente para poder facilitar la entrada a los irrigantes sin producir transporte apical y debilitamiento de la raíz.

Se mantuvo siempre permeable el conducto, con una lima K-flexo-file del calibre 010, con el fin de remover la capa de desechos y evitar posibles obstrucciones apicales.

Autores como Brunson y cols (242) consideran que la recapitulación con una lima del calibre 08 o del 010 incrementa la penetración de la solución irrigante hasta el tercio apical

Vera y cols comprobaron como el uso previo de una lima de permeabilización apical de calibre 010, 1 mm más allá de la constricción apical incrementaba significativamente el flujo de irrigante hacia el ápice cuando se activaba con una lima ultrasónica (61)

7.1.2 Elección del irrigante

El primero de los irrigantes seleccionado es el **hipoclorito de sodio**.

Se decidió de esta manera debido a que el hipoclorito de sodio es la solución química más utilizada en la preparación biomecánica del sistema de conductos (245)

Ha sido recomendado como irrigante para el desbridamiento químico-mecánico de los conductos radiculares por su capacidad de disolver tejidos vitales y necróticos, unido a su habilidad como agente antibacteriano frente a un amplio espectro bacteriano.(246)

En el tratamiento de conductos radiculares, el NaOCl ha sido usado en diversas concentraciones que van desde el 0,25% al 6%

Dunavant (84) demostró que el irrigante de mayor efectividad contra la bio-película dental del *Enterococcus faecalis* con un 99,9% de efectividad, fue el hipoclorito de sodio al 6%.

Senia y cols (86) demostrarán que una concentración del 5,25% no sólo es efectiva contra formas vegetativas sino también con las esporas; además, es capaz de eliminar patógenos organizados en biofilms y en túbulos dentinarios, así como lograr la inactivación de endotoxinas propias de los microorganismos gram negativos.(247).

La eficacia de la solución del hipoclorito de sodio al 5,25% contra bacterias aerobias y anaerobias fue comprobada por Yesilsoy (248)

Retamozo y cols (249) investigaron el tiempo de actuación y la concentración de las soluciones de hipoclorito necesarios para destruir totalmente unos cilindros de hueso bovino contaminados con *E. f*, se precisaron 40 minutos y la única concentración efectiva fue la de 5,25%

En cuanto a la disolución de tejido necrótico, Harrison y cols (79), demostraron que la dilución del NaOCl disminuye significativamente la propiedad para disolver el tejido necrótico. Su concentración al 2,5% fue tan solo un tercio efectiva en comparación con una concentración del 5,25%.

Gomez y cols. demostraron en su estudio que el NaOCl al 5,25% elimina la bacteria *Enterococcus faecalis* en 30 segundos, mientras que a concentraciones del 0,5% al 2,5% requieren de 10 a 30 minutos.

Giardino y cols (10) compararon el efecto antimicrobiano del hipoclorito de sodio al 5,25%, Biopure MTAD® y Tetraclean® sobre bio-películas formadas por *E. faecalis* generadas en filtros de membranas de nitrato celuloso. Los tiempos de evaluación fueron a los 5, 30 y 60 minutos. Y los resultados señalan que el hipoclorito de sodio al 5,25% fue el único irrigante probado capaz de remover la bio-película después de 5 minutos de exposición, mientras que el Tetraclean® lo hizo a los 60 minutos. El MTAD Biopure® no pudo remover la biopelícula en ninguno de los tiempos evaluados. (10)

Por todos estos motivos elegimos una concentración de 5,25%.

Se utilizó tanto para la instrumentación de los especímenes, como en el lavado final combinado con EDTA.

No debemos olvidar que el uso del NaOCl al 5,25% ha sido muy cuestionado debido a su potencial de toxicidad; sin embargo Harrison y cols (79) no encontraron diferencias significativas en cuanto a la incidencia o grado de dolor entre citas en los casos irrigados con NaOCl al 5,25 % al compararlo con solución salina.

Pero el Hipoclorito de sodio por sí mismo, es insuficiente como agente único.

Por lo que elegimos un segundo irrigante el **ácido etilendiaminotretaacético (EDTA)**

Aunque existe gran controversia sobre su capacidad antibacteriana y poder bactericida.

Algunos autores han demostrado que posee ciertas propiedades antimicrobianas.

Patterson (250) afirmó, que aunque limitada, posee cierta capacidad antibacteriana frente a un *Streptococcus alfa hemolítico* y *S. aureus* a concentraciones del 3% y del 10%.

Otros autores como Siqueira y cols (251) y Grawehr y cols (252) encontraron que los halos de inhibición de las soluciones de EDTA al 8,5% y al 17% combinado con hipoclorito al 0,5% eran mayores que los del hipoclorito al 0,5% solo, cuando se expusieron a bacterias anaerobias estrictas y facultativas, entre ellas el *Enterococcus faecalis*.

Esta mayor efectividad de la solución de EDTA frente al hipoclorito al 0,5% resulta incongruente y no tiene consistencia con otros estudios. Posiblemente sea consecuencia de la interferencia de algún componente del medio de cultivo con el hipoclorito.

Por su parte, Zehnder y cols (87) mostraron que una solución de EDTA al 17% inhibía el crecimiento bacteriano del *Enterococcus faecalis* a una disolución de 1/1 y 1/10 pero no 1/100. En este estudio se demostró mas, una capacidad antibacteriana inhibitoria que lo que es en sí bactericida.

En el estudio de Arias Moliz (253) demostraron que una solución de EDTA al 17% no posee capacidad antibacteriana incluso después de estar 60 minutos en contacto con las bacterias.

Al igual que Torabinejad y cols (150) que también demostraron escasa actividad antibacteriana frente al *Enterococcus faecalis*.

Goldman y cols determinaron en su estudio que la solución de EDTA (en cualquier concentración) reduce significativamente las bacterias en conductos necróticos al compararlo con la reducción de bacterias al irrigar con solución salina, y esto podría ser debido a la eliminación del componente inorgánico del barrillo dentinario presente en los túbulos dentinarios, obteniendo un efecto desinfectante por arrastre mecánico. (254).

Con esta idea, el EDTA puede desarticular biofilms adheridos a las paredes del conducto radicular (59)

Por tanto, el EDTA ayuda a regularizar químicamente la dentina del conducto radicular, disolver el barrillo dentinario y aumentar la permeabilidad dentinaria, siendo éste el primer quelante empleado en odontología, en su forma líquida y a una concentración del 17% (245).

El EDTA al 17% a pH 7 puede facilitar el acceso a conductos muy estrechos y descalcificar hasta una profundidad de 50µm (255)

Hasta el momento, el tiempo óptimo de trabajo de los agentes quelantes es incierto, la mayoría de los estudios han reportado una efectiva limpieza del EDTA tanto líquida como en pasta con un tiempo de trabajo entre 1 y 5 minutos (96).

Un estudio reciente de Calt y cols (15) demostró que después de 1 minuto de exposición a 10 ml de EDTA fue suficiente para remover el barro dentinario, mientras que una exposición a 10 minutos causó excesiva erosión peritubular e intratubular. (15).

Mello y cols (256) no hallaron diferencias significativas respecto a la capa residual eliminada cuando se empleó como última irrigación una solución de EDTA solo y en una concentración al 17% en distintos volúmenes: 5ml, 10ml y 15ml.

Este tipo de erosión excesiva, gracias al estudio de Niu y cols (107), se observó que se producía como resultado del uso combinado del EDTA con NaOCl más que con EDTA solo.

Ya en 1983, Yamada aconseja irrigar con 10 ml de EDTA al 17%, seguido de 10 ml de NaOCl al 5%.

Este combinado se ha recomendado como una forma de eliminar el barrillo dentinario. (96).

Algunos autores como Zehnder en 2005 puntualizan que el EDTA interfiere de forma negativa en el hipoclorito de sodio como irrigante, ya que disminuye la cantidad de clorina libre (87), pero al utilizarse en el penúltimo lavado, la importancia de que exista clorina libre disminuye considerablemente.

También encontramos autores como Baumgartner y cols que determinan que la combinación de hipoclorito de sodio al 5,25 % unido al ácido cítrico es 50% más efectiva en la eliminación de detritus de paredes instrumentadas.(97)

O Ballal y cols que hallaron en su estudio una similar eficacia bacteriana entre el ácido maleico al 7 % y el EDTA al 17% y encontraron que el ácido maleico al 7 % descalcificaba la dentina radicular, con una mayor extracción de iones calcio y fósforo durante los primeros cinco minutos, más que el EDTA al 17 %

También Baumgartner y cols (257) compararon la eficacia antimicrobiana de dos regímenes de irrigación en conductos de dientes extraídos en los que inocularon un cultivo de *E. f* durante 4 semanas: NaOCl al 5,25% + EDTA al 15% como lavado final o NaOCl al 1,3% + BioPure MTAD al final. Fue más efectivo el primero con diferencias significativas, con el segundo quedaron más del 50% de los conductos con bacterias cultivables.

Nosotros seguimos la recomendación de Yamada optando por utilizar como lavado final la combinación de NaOCl + EDTA, siendo esta la secuencia:(258)

10 ml Hipoclorito de sodio al 5,25% dejando que actúe 3 minutos + 10 ml de EDTA al 17% actuando 1 minuto + 10 ml de hipoclorito de sodio al 5,25% 3 minutos.

7.1.3 Elección del microorganismo

La elección del microorganismo fue la bacteria *Enterococcus faecalis*

Es una bacteria del tipo coco gram positivo, anaerobia facultativa, bastante resistente a diversos agentes antimicrobianos y capaz de vivir en monoinfección (259)

Esta bacteria está asociada con casos de periodontitis apicales persistentes (30), cuyas infecciones endodónticas son complicadas, por ser un microorganismo difícil de eliminar.

Existe un gran interés en estudiar la capacidad de desinfección de diversos irrigantes en endodoncia frente a la bacteria *Enterococcus faecalis* (11, 260).

Este fue uno de los motivos por los que nosotros también preferimos estudiar esta bacteria.

Es importante recordar el hecho de haber optado sólo por un tipo de bacteria para la realización de los cultivos, ya que de esta manera, se puede verificar el alto número de mono infección.

Según Siren (261), Sundqvist (26), Hancock (27) y Peciuline (262) se prefiere mono infección con *E. f.*, porque se puede producir sinergismo bacteriano (descrito por Sundqvist) (38), en el interior del conducto radicular, ésta penetra en los túbulos dentinarios y sobrevive a periodos relativamente prolongados con falta de nutrientes.

Se confirma con los estudios de Harrison (79), Haapasalo (16), Ostarvik y Siqueira (260, 263) y otros, que emplearon *Enterococcus faecalis* para testar soluciones de hipoclorito de sodio.

Por todo esto es importante conseguir una correcta desinfección del conducto radicular, para evitar que las bacterias que permanecen en el interior de los túbulos dentinarios no tengan sustrato para su proliferación. Además en este sentido toma gran relevancia la esterilización de los dientes estudio antes de la inoculación, para estar completamente seguros que se produce mono infección por *E. f.*

En el presente estudio, realizamos la esterilización de los especímenes con autoclave Euronda E7 a 121 °C, 1,05 Bar durante 30 minutos.

Al igual que otros estudios como el de Pardina y cols (128), para la inoculación, en este estudio, se propuso un preparado del preinóculo, se incubó en aerobiosis durante 24 horas a 37 °C, y cuyo crecimiento se midió por espectometría para ajustarlo entre 10^7 y 10^8 ufc/ml, confirmando posteriormente ese ajuste con crecimiento en BHI agar. A diferencia de los estudios realizados por Siqueira (260) o d 'Arcangelo (264) que se ajustó la concentración de acuerdo con el Standard de McFarland 0,5.

Tanto en otros estudios como en el nuestro, es necesario realizar estos ajustes para garantizar que la cantidad de bacterias inoculadas sea la misma en todos los dientes.

Otro factor a considerar es el tiempo de incubación de las bacterias en el conducto radicular, en el que en este estudio se optó por 2 días como Siqueira (260) y Lynne (265).

Otros autores como Pardina y cols (128) el tiempo de incubación fue de 4 días, 5 días Ribeiro (266), 3 días Akpata.(267)

Ya Haapasalo (16) en 1987, demostró que la bacteria seleccionada, puede penetrar fácilmente en los túbulos dentinarios, verificando que en 24 horas penetró en toda la extensión de la dentina, demostrando así que el tiempo de incubación de este estudio es suficiente para que se desarrolle una contaminación en los túbulos dentinarios.

Una vez recogidas las muestras, el tiempo de lectura de éstas fue de 24 horas y 48 horas.

Nuestro objetivo es determinar la descontaminación del conducto a las 24 horas y a las 48 horas de haber realizado el tratamiento de irrigación/activación correspondiente. En este sentido coincidimos con autores como Schmitt (22), Aun y Paiva y cols (268).

7.1.4 Control Positivo y Negativo

Control Positivo:

El grupo Control Positivo consta de 34 dientes (n=34), 11 muestras para irrigación sin activación, 10 muestras para activación sónica y 13 muestras para activación ultrasónicas.

Como se he explicado en el material y método, en nuestro trabajo los dientes se esterilizan en autoclave y después se inoculan con *E. f*

Se dividen en los 3 grupos experimentales.

Cada grupo experimental se trabajó en días distintos, y cada día se seleccionaba al azar, un diente inoculado como muestra Control Positivo.

Sobre éste no se realiza ningún tipo de tratamiento de irrigación/activación.

Después se realiza la siembra en BHI agar, se comprueba que existe infección y se contabiliza el número de colonias que han crecido.

Encontramos un 100% de infección por *E. f* en el Control Positivo

Con el resultado del recuento de UFC del control positivo compararemos el recuento de UFC de los demás grupos, viendo si ha habido alguna disminución.

Elegimos la opción de seleccionar cada día un diente Control Positivo para verificar que siempre existe infección, que no existe contaminación cruzada, que las bacterias de *E. f* están vivas y que tienen capacidad de reproducción.

Control Negativo

Consta de 30 dientes (n=30).

Se instrumentaron, y no se inocularon con bacteria *E. f*

Se comprueba más tarde por siembra en BHI agar que no existe crecimiento bacteriano.

Coincidimos con autores como Pardina (128), Schmitt (22), Parmar (269), y otros, en tomar como grupo control positivo, muestras inoculadas con crecimiento de *E. f* sin realizarles ningún tratamiento y como grupo control negativo dientes sin inocular con la bacteria.

7.1.5 Elección de las técnicas de irrigación/activación

La limpieza y desinfección de todas las áreas del conducto radicular mediante soluciones irrigadoras se considera esencial para el éxito del tratamiento endodóntico (270).

Numerosos estudios han demostrado que durante la preparación mecánica, quedan muchas zonas del conducto que ni siquiera son tocadas por los instrumentos. (49), actuando únicamente sobre el cuerpo central del conducto. (271).

Además de la complejidad anatómica del propio diente, se suma el problema que supone el vapor lock. Este efecto hace que en muchos casos el irrigante no alcance el tercio apical (86).

Tomando conciencia de lo importante que son estos factores se han propuesto numerosos dispositivos y técnicas de irrigación.

La mayoría de estos sistemas, en los estudios experimentales, muestran un aumento de la limpieza de los conductos. La duda es, si éstos tienen o no una repercusión en el éxito clínico del tratamiento de conductos y cuál es el mejor.

Existen numerosos dispositivos y sistemas de irrigación y de activación de los irrigantes.

Gu y cols efectuaron una revisión de todos ellos

- Manuales: Jeringas y agujas diversas, cepillos (EndoBrush, Navitip...), agitar la solución con una gutapercha, etc.
- Mecánicos: Cepillos rotatorios (Canal Brush), irrigación continua con el sistema Quantec-E, energía sónica a baja frecuencia (1-6 KHz) con dispositivos como MM1500, limas Rispisonic, EndoActivator. Dispositivos con presión alternante, y energía ultrasónica con irrigación continua e instrumentación simultánea o con activación pasiva. (272)

En este estudio se seleccionó como técnicas de irrigación, jeringa convencional sin activación, activación sónica mediante EndoActivator® y activación con Ultrasonidos

Seleccionamos:

- Jeringa y aguja de 27 gauge con salida vertical. Consideramos que es un sistema de irrigación eficiente.
Es una técnica ampliamente aceptada y usada por odontólogos generales y endodoncistas.
Es relativamente sencilla, es fácil controlar la profundidad de la cánula y el volumen que se dispensa de irrigante.

Utilizamos aguja 27 gauge con salida vertical porque consideramos que se obtiene una buena limpieza del conducto radicular, sin riesgo de extrusión, Boutsoukis (273) en su estudio, mediante un modelo computarizado concluyó que las agujas de irrigación con orificio lateral en su punta tenían que situarse a un milímetro de la constricción apical para una correcta limpieza de la zona final del conducto.

- Activación sónica: EndoActivator®: Escogemos este sistema ya que dentro de la activación sónica es el de más reciente aparición. También es sencillo de utilizar y es muy seguro. Un estudio reciente de Uroz-Torres (274), dice que no existen diferencias estadísticamente significativas en la remoción de barrillo dentinario entre el EndoActivator® y las jeringas de irrigación tradicionales.
- Activación Ultrasónica: puntas IRRISAFE® Seleccionamos la llamada Irrigación Ultrasónica Pasiva (IUP), con puntas Irrisafe®, ya que en la literatura se refleja que es un sistema de irrigación eficaz en cuanto a la remoción de tejido pulpar, detritus y penetración del irrigante en zonas del conducto de difícil acceso. (169, 216)

7.2 Resultados

7.2.1 Acción del combinado Hipoclorito sódico más ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) frente al *Enterococcus faecalis*

Al analizar los resultados, observamos que:

- Jeringa convencional: el combinado de NaOCl 5,25 % + EDTA 17 %, como lavado final presenta diferencias significativas en el recuento de UFC entre Control Positivo, 24 horas y 48 horas.
Estas diferencias se dan tanto en *cámara pulpar* como en *ápice*.
- Activación sónica, observamos que:
 - ✓ *Cámara pulpar*: En el lavado final con NaOCl 5,25% + EDTA al 17%, existen diferencias significativas entre el emparejamiento Control Positivo-24 horas y Control positivo-48 horas.
Y no existen diferencias significativas entre 24 horas-48 horas
 - ✓ *Ápice*:_Existen diferencias significativas entre los tres grupos.
- Utilizando Activación Ultrasónica: Observamos los mismos resultados que en Activación sónica.
 - ✓ *Cámara pulpar*: Diferencias significativas entre la pareja Control positivo-24 horas y control positivo - 48 horas.
No existiendo diferencias significativas entre 24 horas – 48 horas.
 - ✓ *Ápice*: Existen diferencia significativas entre los tres grupos

En todos los sistemas de irrigación se observa que existe un menor número de bacterias de *E. f* a las 24 horas, después a las 48 horas y encontramos el mayor número de colonias en el Control positivo

De nuestros resultados deducimos que el combinado NaOCl 5,25 % + EDTA 17% + NaOCl 5,25 % como irrigante final, disminuye el número de *Enterococcus faecalis*, independientemente de si se activa o no.

Esto nos hace pensar que al utilizar los dos irrigantes se consigue un incremento en la limpieza y desinfección de los conductos, al conseguir aunar las ventajas de las dos soluciones, como son la capacidad antibacteriana y de disolución de los tejidos orgánicos del hipoclorito y la capacidad de remoción de tejido inorgánico de EDTA.

Estos resultados concuerdan con estudios como los de Yamada y cols (96) que concluyen que la solución irrigante final más efectiva para la limpieza y remoción del barrillo dentinario del conducto radicular, es el mismo que en este estudio.

De igual manera Niu y cols (275) demostraron que se remueve más detritus irrigando con el combinado EDTA seguido de NaOCl que con EDTA solo, es por esto que varios protocolos de irrigación recomiendan este mecanismo a modo de irrigación final (87)

Otros trabajos como los de Baca y cols vieron que la combinación de 2,5% NaOCl + EDTA 17% + NaOCl 2,5% se inhibía completamente la formación de biofilm de *E .f*. Y una vez formado el biofilm era capaz de destruir el 100% de las colonias.(253)

Gomes y cols obtuvieron una efectividad del 100% en la eliminación de *Enterococcus faecalis*, para todas las concentraciones de NaOCl (desde 0,5% a ,25%) sin combinarlo con EDTA, en diferentes tiempos de de contacto,

También Lofti y cols comprobaron como la irrigación con hipoclorito sódico al 5,25% durante la preparación de los conductos y una irrigación final con EDTA al 17% era más eficaz para eliminar la capa residual que irrigar con hipoclorito sódico al 1,3 % y efectuar un lavado final con MTAD BioPure (Dentsplay Tulsa, Tulsa, OK, EU) como preconiza el fabricante (276)

Al analizar los resultados también observamos en general, en las tres técnicas de irrigación, una disminución mayor en el número de colonias de *E .f* a las 24 horas, después a las 48 horas y por último el mayor número de colonias se presenta en el Control positivo.

Estos resultados no coinciden con el estudio de Schmitt que no encontraron diferencias significativas entre irrigar con NaOCl al 0,25% y NaOCl al 5,25% a las 24 horas y 48 horas. Pero si encontraron diferencias significativas al comparar el número de UFC del Control positivo, con UFC 24 horas y UFC 48 horas. (22)

Los resultados obtenidos podríamos explicarlos de la siguiente manera, en el control positivo no se realiza ningún tratamiento de irrigación por tanto contabilizamos el número de colonias que realmente han crecido. Más tarde, la solución irrigante con sus características antibacterianas, de desinfección y limpieza, se pone en contacto con las bacterias y reduce su número. A las 48 horas este número aumenta, debido a que pueden existir bacterias que hayan quedado vivas y dotadas de nutrientes en los tubulillos dentinarios, y gracias al crecimiento tan rápido que presentan estas bacterias, se ve reflejado en el recuento de UFC a las 48 horas.

Si extrapolamos estos resultados a nuestra realidad clínica, convendría (siempre que la situación de la endodoncia nos lo permitiera) obturar tridimensionalmente el sistema de conductos radiculares el mismo día que se realizara el tratamiento de irrigación/activación para conseguir que aquellas bacterias que no se han eliminado en la fase de instrumentación e irrigación, quedasen englobadas en el material de obturación y muriesen por falta de nutrientes.

Autores como Roane y cols, Pekruhn y cols o Ashkenaz argumentan que los microorganismos residuales quedan enclaustrados dentro de los tubulillos dentinarios, entre el cemento radicular y el material obturador

7.2.2 Eficacia en la eliminación del *Enterococcus faecalis* comparando las 3 técnicas

Analizamos los resultados:

- En Cámara Pulpar.
 - ✓ **A las 24 horas:** Existen diferencia significativas entre las parejas
Sin Activación – Activación Sónica y
Sin activación – Activación Ultrasónica

No existen diferencias significativas entre la pareja
Activación Sónica – Activación Ultrasónica

Observando el gráfico 4: vemos que el mayor número de bacterias lo encontramos en la jeringa convencional, el menor número de bacterias en la activación sónica, pero sin diferencias significativas con la activación ultrasónica.

Por lo que la activación sónica elimina más colonias de *E. f.*, sin diferencias significativas.

Estos resultados coinciden con Kanter y cols (277) en el que en su estudio, comparaba la acción del EndoActivator® con los ultrasonidos, irrigando como lavado final con NaOCl 6,15% + EDTA 17% y viendo que conseguía mejor limpieza el EndoActivator® que IUP pero sin diferencias significativas.

Y a diferencia de autores Uroz Torres (274) que no hallaron una mayor eliminación de la capa residual empleando el EndoActivator®, que con IUP

Pero al analizar la tabla de las medias de la estadística descriptiva, observamos que el control positivo de la jeringa sin activación y el control positivo de la activación sónica es 10^5 , mientras que en la activación ultrasónica es 10^8 . Una vez realizado el proceso de irrigación/activación final, vemos que a las 24 horas la media de la activación ultrasónica ha disminuido hasta 4,25, la sónica 2,75 y jeringa $1,4 \cdot 10^4$.

Por lo que podemos decir que al realizar el lavado final con la activación ultrasónica, partimos de un número mayor de colonias (10^8) y disminuye igual o más que en la activación sónica y en la jeringa respectivamente. Ver tabla 17

Técnica	Control Positivo	24 horas
Sin Activación	$1,020 \cdot 10^5$	$1,457 \cdot 10^4$
Activación Sónica	$1,075 \cdot 10^5$	2,75
Activación Ultrasónica	$4,796 \cdot 10^8$	4,25

Tabla 17: Medias control positivo y 24 horas comparando las 3 técnicas en cámara pulpar

Este es otro de los motivos por los que cada día de trabajo inoculamos un control positivo. Cuando preparamos el preinóculo, lo incubamos en aerobiosis durante 24 horas a 37°C, lo ajustamos por espectometría entre 10^7 y 10^8 . Y más tarde lo sembramos en BHI agar, para comprobar el número real de colonias que han crecido. Al ser un ser vivo con capacidad reproducción no siempre crecerá un número igual de colonias. De esta manera, sabemos cada vez que comenzamos el tratamiento de irrigación/activación de los dientes, de qué número de colonias partimos y más tarde a cual llegamos.

Por tanto, a la vista de los resultados, podemos determinar que la capacidad de eliminación del *Enterococcus faecalis* de la activación ultrasónica (IUP) es mayor que la activación sónica y la jeringa convencional.

No hemos encontrado en la literatura estudios que comparen el control positivo con la muestra, como en nuestro estudio.

✓ **A las 48 horas:** Existen diferencias significativas entre la pareja:

Sin Activación-Activación Ultrasónica

No existen diferencias significativas entre

Sin Activación – Activación Sónica

Activación sónica – Activación Ultrasónica.

En este caso al observar el gráfico de comparaciones por parejas vemos que el menor crecimiento de colonias de *E. f* con un rango muestral promedio de 51,68 es en Activación Ultrasónica, es decir, han crecido menos bacterias a las 48 horas de haber realizado el tratamiento de irrigación/activación, con los ultrasonidos. Después en la activación sónica con un rango promedio muestral de 57,94 y el mayor número lo hallamos en sin activación con 71,89

- En Ápice:

✓ **A las 24 horas:** No existen diferencias significativas entre las 3 técnicas, ya que $P=0,116$ ($P \geq 0,01$)

Pero si nos detenemos en la estadística descriptiva, en la tabla de las medias, ocurre la misma situación que en cámara pulpar: Vemos que en el recuento de colonias,

el control positivo en los ultrasonidos es mayor que en la activación sónica y en la jeringa sin activación. Por lo que podemos afirmar que el sistema que elimina más bacterias es el IUP (Tabla 18)

Técnica	Control Positivo	24 horas
Sin Activación	5,390*10 ⁵	27,00
Activación Sónica	6,375*10 ⁵	1,593*10 ⁴
Activación Ultrasónica	1,758*10 ⁸	1,25

Tabla 18: Medias control positivo y 24 horas comparando las 3 técnicas en ápice

- ✓ **A las 48 horas:** Existen diferencias significativas entre las tres técnicas, obteniéndose el menor número de colonias de *E. f* en la activación ultrasónica y después en activación sónica y por último mayor número de UFC en jeringa sin activación.

En resumen: Podemos determinar que los **ultrasonidos (IUP)** presentan una mayor capacidad de eliminación de colonias de *E. f* a las 24 horas tanto en cámara pulpar como en ápice, que la activación sónica y la jeringa convencional sin activación.

Y a las 48 horas los ultrasonidos presentan un menor crecimiento de la bacteria que los otros dos sistemas

Pero con ninguno de los sistemas eliminó por completo todas las bacterias.

Los resultados positivos de la activación ultrasónica los podemos atribuir a 2 factores fundamentales:

- La potencia ultrasónica provoca la separación de los biofilms de la pared del conducto
- La bacteria se hace más permeable al irrigante gracias a un debilitamiento temporal de la membrana.

Además los ultrasonidos, con la oscilación de la lima, puede provocar que los irrigantes lleguen a zonas poco accesibles a nuestros instrumentos, como son los conductos laterales y los tubulillos dentinarios, y como hemos visto el *E. f* tiene la

habilidad de invadir y mantenerse viable en estas zonas, por lo tanto, su capacidad de eliminación es mayor que en otros sistemas.

Existen numerosos estudios que analizan la efectividad de los sistemas de irrigación y en los que se concluye, al igual que nosotros, que la activación ultrasónica (en especial IUP) es una técnica muy eficaz, en la eliminación de bacterias, detritus y el barrillo dentinario del sistema de conductos, de manera superior a la jeringa convencional sin activación y de manera igual o superior que a otros sistemas mecanizados.

Siu y cols afirmaron que el uso de dispositivos sónicos y ultrasónicos en general han demostrado una mayor efectividad que la irrigación con aguja, aunque los resultados no son concluyentes (278)

Townsend y cols (279) realizaron un estudio *in vitro* en el que compararon la eliminación mecánica de bacterias *E. f.* mediante 5 sistemas de irrigación. Compararon IUP, jeringa convencional, EndoActivator®, EndoVack y otro sistema sónico. El irrigante (agua estéril) se activó 30 segundos en todos los sistemas. Y las conclusiones del estudio fueron que IUP fue significativamente más efectivo que la irrigación convencional y el EndoVac. Sin embargo, no había diferencias estadísticamente significativas con el EndoActivator®.

Spoleti y cols (280) en 2003 evaluaron la influencia de la activación por IUP sobre la desinfección de los conductos radiculares irrigando con solución salina y vieron que el grupo irrigado sin activación con IUP, presentaba mayor número de colonias de *E. f.* que el grupo irrigado y activado.

Alves y cols (281) realizaron un estudio en 2011 para comparar la capacidad de distintos enfoques y complementar el efecto antimicrobiano de las preparaciones químico-mecánica en conductos ovalados. Inocularon con *E. f.* y prepararon los conductos con instrumentación mecánica e irrigando con NaOCl al 2.5%. Después las muestras se sometieron a un lavado final con clorhexidina al 2% activada con IUP. Viendo que el efecto antibacteriano de la clorhexidina activada con IUP era efectiva.

Bhuva y cols (239) realizaron un estudio *in vitro* para comparar la efectividad de la irrigación de NaOCl al 1% con IUP respecto a la misma concentración de dicho irrigante aplicado con jeringa convencional en la erradicación del *E. f.* Se determinó que tanto la jeringa convencional como la agitación con IUP son igual de efectivas,

eliminando por completo los biofilms de *E. f.*, pero sin diferencias significativas entre ambas técnicas. Es importante señalar que en este estudio se utilizaron sólo 40 segundos de IUP frente a 2 minutos de irrigación con la jeringa convencional.

Paiva y cols (282) evaluaron mediante un estudio *in vivo* la capacidad de 2 técnicas diferentes para complementar los efectos antimicrobianos del desbridamiento químico-mecánico. Para ello se tomó una muestra del conducto antes de instrumentar, otra después de instrumentar e irrigar con NaOCl al 2,5% y otra después de hacer lavado final con clorhexidina al 2% y activado con IUP y vieron que el grupo de la clorhexidina y IUP había reducido la incidencia de bacterias comparado con las muestras antes y después de instrumentar.

Sabins y cols (189) y Stamos y cols (184) conjeturaron que los sistemas ultrasónicos más poderosos, eran más efectivos en la remoción de restos dentinarios que los sistemas de irrigación sónicos.

La relación positiva entre la velocidad acústica y la frecuencia pueden explicar la superioridad en cuanto a la eficacia de los sistemas ultrasónicos frente a los sistemas sónicos.

7.2.3 Comparación de la eficacia en la eliminación del *Enterococcus faecalis* de cada técnica dependiendo de la longitud del conducto.

En este apartado, nuestro objetivo es comparar la eficacia en la eliminación del *E. f.* por parte de la solución irrigante, activándola o sin activar, cuando se sitúa en dos puntos de la longitud del conducto, concretamente, en cámara pulpar y en ápice (a 3 mm de la longitud de trabajo)

Los resultados son

- Jeringa convencional sin activación:
 - ✓ **A las 24 horas:** Existen diferencias significativas entre dejar el irrigante en cámara pulpar y en ápice, con una $P= 0,007$ ($P\leq 0,01$) Habiendo mayor número de colonias en cámara pulpar con un rango de media de 46,72 mientras que en ápice presenta un rango de media de 34,28
 - ✓ **A las 48 horas :** No existen diferencias significativas entre dejar el irrigante en cámara o en ápice
- Activación Sónica con EndoActivator®: Tanto a las 24 horas como a las 48 horas No existen diferencias significativas entre dejar y activar con EndoActivator® el irrigante en cámara pulpar o en ápice
- Activación Ultrasónica: No existen diferencias significativas entre irrigar y activar con puntas IRRISAFE en cámara pulpar o en ápice, ni a las 24 horas ni a las 48 horas

Por lo que podemos observar, utilizando jeringa convencional se preferiría dejar el irrigante final, en el ápice, para disminuir el número de *E. f*, ya que en este caso, si existen diferencia significativas entre dejarlo en cámara o en ápice.

En cambio con los sistemas de activación (sónicos y ultrasónicos) no existen diferencias significativas entre dejarlo en cámara o en ápice.

Nosotros consideramos que dejando el irrigante en la cámara pulpar en la fase de instrumentación y después realizando un lavado final con un sistema de agitación en cámara, conseguimos una buena limpieza y desinfección del conducto radicular, además de una seguridad añadida ante una posible extrusión al periápice.

A excepción del estudio de Harrison y cols. no hemos encontrado artículos en la literatura endodóntica, en la que se estudie la capacidad de eliminación del *E. f* de un sistema de irrigación, comparándolo con la longitud del conducto en la que se deposite el irrigante. La mayoría de los artículos comparan las distintas técnicas de irrigación comparando los tercios radiculares.

Harrison y cols (283) en su estudio, analiza la penetración del *E. f* en cada tercio radicular y su eliminación. Divide las muestras en 3 grupos. El primero: un lavado final con 1 ml NaOCl al 1 % + 3 ml de EDTA al 15% + 1 ml NaOCl 1%, el segundo: el mismo irrigante activado con IUP durante 1 min y el último grupo: lavado final con activación + hidróxido de calcio. En cuanto a la eliminación del *E. f* no obtuvo diferencias significativas entre los tres grupos y tampoco encontró diferencias significativas en cada uno de los grupos entre los tercios coronal, medio y apical

Gómez y cols (284) en su estudio compararon la irrigación convencional con IUP. El lavado final se realizó NaOCl al 3,5%. En el grupo de IUP el irrigante se activó 1 minuto. Los resultados fueron que IUP fue más efectivo eliminando *E. f* en el tercio cervical y medio que en el apical, ya que se consiguió eliminar el 100% de las colonias mientras que en la irrigación convencional se eliminó en el tercio coronal un 80% y en el medio sólo un 44%.

Blank-Gonçlves y cols investigaron la capacidad para eliminar la capa residual en el tercio apical de conductos curvos irrigando con EDTA más hipoclorito sódico al finalizar la preparación de modo convencional, con activación pasiva ultrasónica de una lima K o con un dispositivo sónico como el EndoActivator®. Concluyo que las técnicas que activan la solución fueron más efectivas, sin diferencias significativas entre ellas. (285)

Muñoz y Camacho Cuadra investigaron sobre la distancia que alcanzaba la solución de irrigación respecto a la longitud de trabajo con tres técnicas de irrigación: aguja convencional, EndoVac y vibración ultrasónica pasiva con lima k. La distancia que alcanzó la solución respecto la longitud de trabajo fue respectivamente: 1,51mm, 0,42mm y 0,21mm. (286)

Malki y cols hallaron que mediante la activación ultrasónica pasiva de una lima k, se pueden remover residuos hasta 3 milímetros más allá de la punta de la lima (287)

Shweta y Tewari (288) observaron una mayor limpieza utilizando una aguja Navitip FX unido a la activación pasiva de una lima ultrasónica que con una aguja convencional, especialmente a 3mm de la constricción

7.2.4 Eficacia en la eliminación del *Enterococcus faecalis* de las técnicas de irrigación al repetir el ciclo de irrigación/activación 3 veces

En 2010 Lucas y cols realizan un estudio in vitro en el que evalúan la capacidad de limpieza y desinfección de las paredes del conducto radicular durante la irrigación y activación del hipoclorito al 2 y 10 %, comparándolo con la irrigación y activación del agua carbonatada y agua destilada. En este estudio se plantean si existe un efecto acumulativo del irrigante al realizar el ciclo de irrigación/ aspiración 3 veces.

El irrigante se depositó a 1 mm de la longitud de trabajo con jeringa convencional y aguja Navitip de 30 gauge. Para la activación ultrasónica pasiva (IUP) utilizaron ultrasonidos y puntas Irrisafe® llevadas a 1 mm de la longitud de trabajo. El volumen de irrigación fue de 6 ml en cada irrigante. El tiempo total de irrigación/activación fue de 2 minutos, dividido en 3 secuencias de 40 segundos cada una.

Como grupos control utilizaron como irrigante el agua carbonatada y NaOCl al 10% que se lleva a 1 mm de la longitud de trabajo, con jeringa convencional sin activar.

Después se cortaron longitudinalmente los dientes en dos mitades y a éstas se realizaron fotografías de la pared del conducto radicular. A estas fotografías se dio una puntuación dependiendo del grado de limpieza y desinfección.

Los resultados fueron que existían diferencias significativas entre todos los grupos ($p < 0,001$). Dentro de los grupos experimentales, los de hipoclorito sódico al 2 y 10% que irrigaban/activaban con IUP eran más efectivos en la limpieza que los de irrigación/activación con agua carbonatada y destilada.

También existían diferencias significativas entre los grupos IUP y los de jeringa convencional sin activar (238)

Este estudio nos motivó a analizar si existía un efecto acumulativo en la eliminación del *E. f* por las tres técnicas de irrigación/activación y con el lavado final que habíamos seleccionado.

Al analizar nuestros resultados observamos que en las tres técnicas de irrigación, jeringa convencional sin activación en cámara pulpar y ápice, activación sónica en cámara pulpar y activación ultrasónica en cámara pulpar y en ápice, obtenemos que existen diferencias significativas entre la pareja comparada, control positivo- realizar 1 ciclo de irrigación/aspiración y la pareja control positivo- realizar 3 ciclos pero no existen diferencias significativas entre realizar el ciclo 1 vez - 3 veces.

En Activación Sónica a nivel de ápice existen diferencias significativas entre control positivo - 3 ciclos pero no entre las parejas control positivo- 1 ciclo y la pareja 1 ciclo -3 ciclos

Se observa siempre el mayor número de colonias en control positivo, después en 1 ciclo y el menor número de colonias en 3 ciclos pero no desaparecen completamente en todas las muestras.

Por tanto no se ve un efecto acumulativo en la eliminación del *E. f* al realizar el ciclo irrigación/activación 3 veces

Tras la valoración de nuestros resultados, la diferencia con Lucas y cols puede ser debido a que con la combinación de los irrigantes seleccionados, la concentración, el tiempo de actuación de éstos, activándolos con técnicas mecánicas, un único lavado final, parece ser suficiente para conseguir una disminución del *E. f* y unas condiciones clínicas adecuadas, además de no someter a la dentina a una exposición extra a los irrigantes, ya que éstos producen una disminución de su dureza.

8 Conclusiones

CONCLUSIONES

Primera

La combinación de hipoclorito sódico más ácido etilendiaminotetracético (EDTA) es eficaz en la eliminación del *Enterococcus faecalis* en el interior del conducto radicular.

Segunda

La activación del hipoclorito sódico más el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) aumenta la eficacia en la eliminación del *Enterococcus faecalis* sin diferencias significativas entre la sónica y la ultrasónica.

Tercera

La capacidad de eliminación del *Enterococcus faecalis* con los ultrasonidos es mayor que en los otros dos sistemas de activación estudiados.

Cuarta

El lugar de colocación de la sustancia irrigadora no afecta a la capacidad de eliminación del *Enterococcus faecalis*

Quinta

La repetición del ciclo irrigación/activación no provoca un efecto acumulativo en la eficacia de la eliminación del *Enterococcus faecalis*

9 Abstract

ABSTRACT

INTRODUCTION

Irrigation is essential to root canal disinfection

It is used to remove the residual layer, composed of organic and inorganic residues, including microorganisms that may remain viable in the interior and be the cause of exacerbations.

It has been demonstrated that rotary instrumentation reduces the number of bacteria by only 50%. Consequently, we have used numerous irrigants along the years to disinfect the root canal.

Today there is no irrigant that can perform effective irrigation on its own. Therefore, we resort to the combination of irrigants, using one as a disinfectant and another as a chelating agent. The most common are sodium hypochlorite and ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA).

Certain areas of the canal system are inaccessible for manual and mechanical instrumentation and as a result, in addition to conventional irrigation systems, new irrigation and agitation mechanisms have been conceived to help the irrigant reach said areas.

Knowledge of the bacterial flora inside the root canals has increased concern about the ability to decontaminate them.

Enterococcus is the bacterial species most frequently isolated in dental infection. *Enterococcus faecalis* is capable of surviving in very difficult environmental conditions, such as the root canal after endodontic treatment.

Given the characteristics of *Enterococcus faecalis* and the need to comply with the primary biological goal of endodontics, it is of interest to know to what extent the combination of irrigants such as sodium hypochlorite (NaOCl) and

ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), activated using the latest technology, are more effective in eliminating this bacteria.

WORKING HYPOTHESIS

The irrigation techniques used in this study eliminate the same number of *Enterococcus faecalis* colonies when counted after 24 hours and after 48 hours.

All the irrigation techniques used in this study eliminate the same number of *Enterococcus faecalis*.

The irrigation techniques used in this study eliminate the same number of *Enterococcus faecalis* colonies regardless of whether the irrigant is deposited in the pulp chamber or at the apex.

OBJECTIVES

1. To determine whether a combination of sodium hypochlorite and EDTA is effective in eliminating *Enterococcus faecalis* in the root canal.
2. To verify whether or not the sonic or ultrasonic activation of sodium hypochlorite and EDTA increases efficiency in eliminating *Enterococcus faecalis*.
3. If the activation increases effectiveness in eliminating *Enterococcus faecalis*, to check for differences between sonic and ultrasonic activation.
4. To verify whether or not the location of the irrigant affects the capacity for eliminating *Enterococcus faecalis*.

METHOD

Teeth extracted without fractures, root decay or fillings, open apices or endodontic treatment are used. Cameral openings and the instrumentation of root canals are performed. They are sterilized and inoculated with strains of *Enterococcus faecalis*. The teeth are randomly divided into 3 groups of 80 samples each (Groups 1, 2 and 3 correspond to the irrigation/aspiration technique that is performed). The groups are divided into 2 subgroups of 40 samples (A and B, corresponding to the length of the canal where the irrigant is deposited). All the groups are subjected to a final wash with this combination of irrigants: 10 ml of sodium hypochlorite 5.25%, acting for 3 minutes + 10 ml of ethylenediaminetetraacetic acid 17% 1 minute + 10 ml of sodium hypochlorite 5.25% 3 minutes and an irrigation and aspiration technique. Group 1 irrigation without activation: Group 1A: This combination of irrigants is deposited in the pulp chamber using a 27 gauge needle mounted on a conventional syringe. Group 1B. The irrigant is deposited at the apex. Group 2: Sonic activation: Group 2A: The irrigant is activated with EndoActivator® in the pulp chamber. Group 2B: Activated at the apex. Group 3: Ultrasonic Activation: Group 3A: Activated with Irrisafe® tips mounted on Acteon Satelec ultrasounds in the pulp chamber. Group 3B: Activated at the apex.

Samples are taken inside the canal and cultivated on a BHI agar plate. The teeth are sealed with Moico wax and deposited in Falcon tubes with BHI broth. The plate cultures and Falcon tubes are incubated at 37°C in aerobic conditions for 24 hours.

After 24 hours, the CFU/ml (colony forming units/ml) count is performed. Another sample is taken from inside the canal, followed by the same process but for 48 hours.

RESULTS

The results are subjected to statistical study.

A descriptive statistical study was made to find the mean, median, standard deviation, maximums, minimums and 25th and 75th percentile values.

For the inferential statistical study, the data were subjected to multiple comparison tests using the Friedman, Kruskal-Wallis test and Mann Whitney tests. The P values were then corrected using the Bonferroni method (the P resulting from the comparison of every two groups is multiplied by the total number of the comparison).

The values $P \leq 0.05$ were considered statistically significant.

CONCLUSIONS

1. The combination of sodium hypochlorite and ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) is effective in eliminating *Enterococcus faecalis* in the root canal.
2. The activation of sodium hypochlorite plus ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) increases the efficiency of eliminating *Enterococcus faecalis* and no significant differences were found between sonic and ultrasonic activation.
3. The elimination capacity of the ultrasounds was greater than the other two systems studied.
4. The location for depositing the irrigant does not affect the capacity for eliminating *Enterococcus faecalis*.

10 ***Resumen***

RESUMEN

JUSTIFICACIÓN

La irrigación es un paso indispensable en la desinfección del conducto radicular

Con la que se pretende eliminar la capa residual, compuesta por restos orgánicos e inorgánicos, incluyendo microorganismos que podrían permanecer viables en su interior y ser la causa de reagudizaciones

Está demostrado que la instrumentación rotatoria reduce el número de bacterias sólo en un 50%. Como consecuencia, se han empleado numerosos irrigantes a lo largo de los años para la desinfección del conducto radicular

A día de hoy, no existe un irrigante que pueda efectuar por sí mismo una irrigación efectiva, por tanto se recurre a la combinación de irrigantes, utilizando uno como desinfectante y otro como quelante.

Los más comunes son el hipoclorito sódico y el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA).

Existen zonas del sistema de conductos inaccesibles a la instrumentación, tanto manual como mecánica, por lo que además de los sistemas de irrigación convencionales, han surgido nuevos mecanismos de irrigación y agitación para que el irrigante alcance esas zonas

El conocimiento de la flora bacteriana del interior de los conductos radiculares, ha contribuido a un aumento de la preocupación acerca de la capacidad de descontaminación de los mismos

El *Enterococcus* es la especie bacteriana que con más frecuencia se aísla en la infección dental. El *Enterococcus faecalis* tiene la capacidad de sobrevivir en unas condiciones ambientales muy complicadas, como es, el medio del conducto radicular tras un tratamiento endodóntico

Por las características del *Enterococcus faecalis* y por la necesidad de cumplir con el objetivo biológico principal de la endodoncia, resulta interesante saber hasta qué punto, la combinación de irrigantes como el hipoclorito de sodio (NaOCl) y el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), activándolos con las últimas tecnologías, aumentan su eficacia en la eliminación de esta bacteria.

HIPÓTESIS DE TRABAJO

Las técnicas de irrigación utilizadas en este estudio, eliminan el mismo número de colonias de *Enterococcus faecalis* tanto cuando su recuento se lleva a cabo a las 24 horas como a las 48 horas.

Todas las técnicas de irrigación utilizadas en este estudio eliminan el mismo número de *Enterococcus faecalis*.

Las técnicas de irrigación utilizadas en este estudio, eliminan el mismo número de colonias de *Enterococcus faecalis* independientemente de que el irrigante se deposite en la cámara pulpar o en el ápice.

OBJETIVOS

5. Determinar si la combinación de hipoclorito de sodio con EDTA es eficaz en la eliminación del *Enterococcus faecalis* en el interior del conducto radicular.
6. Comprobar si la activación sónica o la activación ultrasónica del hipoclorito de sodio más EDTA aumenta la eficacia en la eliminación del *Enterococcus faecalis*
7. En caso de que la activación aumente la eficacia en la eliminación del *Enterococcus faecalis* comprobar si existen diferencias entre la activación sónica y la ultrasónica.

8. Comprobar si el lugar de colocación de la sustancia irrigadora afecta a la capacidad de eliminación del *Enterococcus faecalis*

MÉTODO

Se emplean dientes extraídos sin fracturas, caries u obturaciones radiculares, ápices abiertos o tratamientos endodónticos. Se realizan aperturas camerales e instrumentación de los conductos radiculares. Se esterilizan y se inoculan con cepas de *Enterococcus faecalis*. Los dientes se dividen aleatoriamente en 3 grupos (Grupo 1, 2 y 3, corresponden con la técnica de irrigación /aspiración que se realiza) de 80 muestras, cada uno a su vez, se divide en 2 grupos (A y B, corresponde con la longitud del conducto donde se deposita el irrigante) de 40 muestras. Todos los grupos se someten a un lavado final con esta combinación de irrigantes: 10 ml de Hipoclorito de sodio al 5,25% actuando 3 minutos + 10 ml ácido etilendiaminotetraacético al 17% 1 minuto + 10 ml de hipoclorito de sodio al 5,25% 3 minutos y a una técnica de irrigación y aspiración. Grupo 1 Irrigación sin activación: Grupo 1A: Este combinado de irrigantes se deposita en cámara pulpar con aguja 27 gauge montada en jeringa convencional. Grupo 1B. El irrigante se deposita en ápice. Grupo 2: Activación sónica: Grupo 2A: El irrigante se activa con EndoActivator® en cámara pulpar. Grupo 2B: Se activa en ápice. Grupo 3: Activación Ultrasónica: Grupo 3A: Se activa con puntas Irrisafe® montadas en ultrasonidos Acteon Satelec en cámara pulpar. Grupo 3B: Se activa en ápice.

Se toman muestras del interior del conducto y se cultivan en placa BHI agar. Los dientes se sellan con cera Moico y se depositan en tubos Falcon con BHI caldo. Los cultivos en placas y los tubos Falcon se llevan a una estufa a 37 °C en condiciones de aerobiosis 24 horas.

A las 24 horas se realiza el recuento de UFC/ml (unidades formadoras de colonias/ml). Y se vuelve a tomar una muestra del interior del conducto, para realizar el mismo proceso a las 48 horas.

RESULTADOS

Los resultados se someten a su estudio estadístico.

Se realizó una estadística descriptiva en la que se hallan valores medios, mediana, la desviación estándar, máximos, mínimos y percentiles 25 y 75.

Para la estadística inferencial, los datos se sometieron a los test de comparaciones múltiples, utilizando test de Friedman, test de Kruskal- Wallis y test de Mann Whitney. Posteriormente se realizó corrección de P valores por el método de Bonferroni (la P resultante de la comparación de cada dos grupos se multiplica por el número total de la comparación)

Los valores $P \leq 0,05$ fueron considerados estadísticamente significativos

CONCLUSIONES

5. La combinación de hipoclorito sódico más ácido etilendiaminotetracético (EDTA) es eficaz en la eliminación del *Enterococcus faecalis* en el interior del conducto radicular.
6. La activación del hipoclorito sódico más el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) aumenta la eficacia en la eliminación del *Enterococcus faecalis* sin diferencias significativas entre la sónica y la ultrasónica.
7. La capacidad de eliminación del *Enterococcus faecalis* por parte del ultrasonidos es mayor que en los otros dos sistemas estudiados.
8. El lugar de colocación de la sustancia irrigadora no afecta a la capacidad de eliminación del *Enterococcus faecalis*

11 Bibliografia

BIBLIOGRAFIA

1. Sayin TC SA, Cehreli ZC, Otlu HG. The effect of EDTA, EGTA, EDTAC, tetracycline-HCl with and without subsequent NaOCl treatment on the microhardness of root canal dentin. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2007;104:418-24.
2. JF I. *Endodontics*. Mexico: Interamericana. 1987:106-229.
3. McComb D SD. A preliminary scanning electron microscopic study of root canals after endodontic procedures. *J Endod.* 1975;1:238-42.
4. Haapasalo M EU, Zandi H, Coil JM. Eradication of endodontic infection by instrumentation and irrigation solutions. *Endodontic Topics.* 2005;10:77-102.
5. Estrela C SJ, de Alencar AH, Lles CR, Decurcio DA. Efficacy of sodium hypochlorite and chlorhexidine against *Enterococcus Faecalis*- A systematic review. *J Appl Oral Sci.* 2008;16:364-8.
6. Sena NT GB, Vianna ME, Berber VB, Zaia AA, Ferraz CC, Souza-Filho FJ. In vitro antimicrobial activity of sodium hypochlorite and chlorhexidine against selected single-species biofilms. *Int Endod J.* 2006;36:878-85.
7. Pasqualini D CA, Scotti N, Mandras N, Scalas D, Pera F, Berutti E. Comparative evaluation of the antimicrobial efficacy of a 5% sodium hypochlorite subsonic-activated solution. *J Endod.* 2010;1-3.
8. Wu MK dSF, van der Sluis LW, Wesselink PR. The quality of root fillings remaining in mandibular incisors after root-end cavity preparation. *Int Dent J.* 2001;34:613-9.
9. OA. P. Current challenges and concepts in the preparation of root canal systems: a review. *J Endod.* 2004;30:559-67.
10. Krishnamurtthy S SS. Evaluation and prevention of the precipitate formed on interaction between sodium hypochlorite and chlorhexidine *J Endod.* 2010;36:1154-7.
11. Gomes BP FCVM, Berber VB, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. in vitro antimicrobial activity of several concentrations of sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate in the elimination of *Enterococcus faecalis*. *Int Endod J.* 2001;34:424-8.
12. Bystrom A SG. Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy. *Scand J Dent Res.* 1981;89:424-8.
13. Sedgley CM NA, Hall D, Applegate B. Influence of irrigant needle depth in removing bioluminescent bacteria inoculated into instrumented root canals using real-time imaging in vitro. *Int Dent J.* 2005;38:97-104.
14. Van der Sluis L WM, Wesselink P. Comparison of 2 flushing methods used during passive ultrasonic irrigation of the root canal. *Quintessence Int.* 2009;40:875-9.

15. Calt S SA. Time dependent effects of EDTA on dentin structures. *J Endod.* 2002;28:17-9.
16. Haapasalo M OD. In vitro infection and disinfection of dentinal tubules. *J Dent Res* 1987;66:1375-9.
17. Cunningham WT MH, Forrest WR. Evaluation of root canal debridement by the endosonic ultrasonic synergistic system. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1982;54:238-41.
18. CJ. S. Current status of the use of ultrasound in endodontics. *. Int Dent J.* 1991;41:175-82.
19. Van der Sluis LW VM, Wu MK, Wesselink PR. Passive ultrasonic irrigation of the root canal. *. Int Endod J.* 2007;40:415-26.
20. Passarinho-Neto JG MM, Ferreira RB, Silva RG, Silva-Sousa YT, Sousa-Neto. In vitro evaluation of endodontic debris removal as obtained by rotary instrumentation copled with ultrasonic irrigation. *Aust Endod J.* 2006;2006:123-8.
21. Gutarts R NJ, Reader A, Beck M. In vivo debridement efficacy of ultrasonic irrigation following hand-rotary instrumentation in human mandibular molars. *J Endod.* 2005;31:166-70.
22. Schmitt PF dLMM, di Spagna Souza A. Evaluación comparativa del poder de desinfección del hipoclorito de sodio 5,25% versus hipoclorito de sodio 0,5% asociado al Endo-PTC, de conductos radiculares contaminados in vitro por *Enterococcus Faecalis*. *Endodoncia.* 2007;25:84-91.
23. Sedgley C AB, Nagel A, Hall D. Real-time imaging and quantification of bioluminescent bacteria in root canals in vitro. *J Endod.* 2004;30:893-8.
24. B. M. *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* in infected dental root canals at filling and their susceptibility to azidocillin and some comparable antibiotics. *Odontol Revy.* 1975;26:193-204.
25. Molander A RC, Dahlen G, Kvist T. Microbiological status of root-filled teeth with apical periodontitis. *Int Endod J.* 1998;31:1-7.
26. Sundqvist G FD, Persson S, Sjogren U. Microbiologic analysis of teeth with faild endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1998;85:86-93.
27. Hancock HH SA, Trope M, Moiseiwitsch J. Bacteria isolated alter unsuccessful endodontic treatment in a North American population. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2001;91:579-86.
28. Portenier I TM, Waltimo M, Haapasalo MP. *Enterococcus faecalis*- the root canal survivor and "star" in post-treatment disease. *Endod Top.* 2003;6:135-59.
29. Costerton JW LZ, Debeer D, Caldwell D, Korber D, James G. Biofilms, the customized microniche. *J Bacteriol.* 1994;176:2137-42.

30. Sjögren U FD, Persson S, Sundqvist G. Influence of infection at the time of root filling on the outcome of endodontic treatment of teeth with apical periodontics. *International Endodontics Journal*. 1997;30:297-306.
31. Lussi A NU, Grosrey J. A novel noninstrumented technique for cleansing the root canal system. *J Endod*. 1993;19:549-53.
32. Sjögren U SG. Bacteriologic evaluation of ultrasonic root canal instrumentation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1987;63:366-70.
33. K. L. Tissue response to dental caries. *Endod Dent Traumatol*. 1987;3:149-71.
34. Zehnder M GS, Hasselgren G. Pathologic interactions in pulpal and periodontal tissues. *J Clin Periodontol*. 2002;29(663-671).
35. Hanh CL BA, Tew JG. Cytokine induction by *Streptococcus mutans* and pulpal pathogenesis. *Infect Immun*. 2000;68:6785-9.
36. Petersson K SC, Kiani-Anaraki M, Levy G. . Evaluation of the ability of thermal and electrical tests to register pulp vitality. *Endod Dent Traumatol*. 1999;15:127-31.
37. PN. N. Pathogenesis of apical periodontitis and the causes of endodontic failures. *Crit Rev Oral Biol Med*. 2004;15:348-81.
38. G. S. Taxonomy, ecology, and pathogenicity of the root canal flora. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1994;78:522-30.
39. RM L. *Enterococcus Faecalis*. *Int Endod J*. 2001;34:399-405.
40. Chavez De Paz LE DG, Molander A, Möller A, Bergenholtz G. . Bacteria recovered from teeth with apical periodontitis after antimicrobial endodontic treatment. *Int Endod J*. 2003;36:500-8.
41. Haapasalo M RK, Ranta H. Facultative Gram-negative enteric rods in persistent peripical infections. *Acta Odontol Scand*. 1983;91:458-63.
42. Waltimo TM SE, Torkko HL, Olsen I, Haapasalo MP. . Fungi in therapy-resistant apical periodontitis. *Int Endod J*. 1997;30:96-101.
43. McHugh C ZP, Michalek S, Eleazer P. PH required to kill *Enterococcus faecalis* in vitro. *J Endod*. 2004;30(218-9).
44. Nakajo K KR, Ishikawa S, Ueno T, Suzuki Y, Iwami Y, Takahashi N. Resistance to acidic and alkaline environments in the endodontic pathogen *Enterococcus faecalis*. . *Oral Microbiol Immunol*. 2006;21:283-8.
45. Distel J HJ, Gillepsie MJ. *Enterococcus faecalis* colonization and biofilm formation in medicated root canals. *J Endod*. 2001;28:689-93.
46. Costerton JW SP, Greenberg EP. Bacterial biofilms; a common cause of persistent infections. *Science*. 1999;284:1318-22.

47. Ferreira RB AE, Porto de Arruda M, Silva Sousa YT, SousaNeto MD. Histological analysis of the cleaning capacity of nickeltitanium rotary instrumentation with ultrasonic irrigation in root canals. *Aust Endod J*. 2004;30:56-8.
48. Z. M. Sodium Hypochlorite in endodontics: an update review. *Int Dent J*. 2008;58:329-41.
49. Peters O SK, Laib A. Effect of four Ni-Ti preparation techniques on the root canal geometry assessed by micro computed tomography *Int Endod J*. 2001;34:221-30.
50. Nair PN HS, Cano V, Vera J. Microbial status of apical root canal system of human mandibular first molars with primary apical periodontitis after "one visit" endodontic treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2005;99:231-52.
51. Ricucci D SJJ. Fate of the tissue in Lateral Canals and Apical Ramifications in Response to Pathologic Conditions and Treatment Procedures *J Endod*. 2010;36:1-15.
52. Molander A RC, Dahlén G. The antimicrobial effect of calcium hydroxide in root canals pre-treated with 5% iodinepotassium iodide. *Endod Dent Traumatol*. 1999;15:205-9.
53. C. CS. Preparación de los conductos radiculares. . Canalda C, Brau E, ed *Técnicas clínicas y bases científicas*. 2001:151-83.
54. Chugal NM; Clive JM SL. Endodontic infection: some biologic and treatment factors associated with outcome. *oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2003;96:81-90.
55. Sjögren U FD, Spangberg L, Sundqvist G. The antimicrobial effect of calcium hydroxide as a short-term intracanal dressing. *Int Dent J*. 1991;24:119-25.
56. George S KA, Song KP. The role of environmental changes on monospecies biofilm formation on root wall by *Enterococcus faecalis*. *J Endod*. 2005;31:867-72.
57. Portenier I HH, Orstavik D, Yamauchi M, Haapasalo M, . Inactivation of the antibacterial activity of iodine potassium iodide and chlorhexidine digluconate against *Enterococcus faecalis* by dentin, dentin matrix, type-I collagen, and heat-killed microbial whole cells. *J Endod*. 2002;28:634-7.
58. Basrani BR MS, Fillery E. Using diazotization to characterize the effect of heat or sodium hypochlorite on 2,0% chlorhexidine *J Endod*. 2009;35:1296-9.
59. M. Z. Root canal irrigants. *J Endod*. 2006;32:389-98.
60. Haapasalo M QW, POrtenier I, Waltimo T. Effects on dentin on the antimicrobial properties of endodontic medicaments. *J Endod*. 2007;33:917-25.
61. Vera Rojas J BGM, Moreno Silva E, Romero Viñas M. Conceptos y técnicas actuales en la irrigación endodóntica. *Endodoncia*. 2012;30:31-43.
62. O'Connell MS ML, Beeler WJ, et all. A comparative study of smear layer removal using differents salts of EDTA. *J Endod*. 2000;26:739-43.
63. Baumgartner JC CP. Efficacy of several concentrations of sodium hypochlorite for root canal irrigations. *J Endod*. 1992;18:605-12.

64. Vianna ME HH, Conrads G, Gomes BP. In vivo evaluation of microbial reduction after chemo-mechanical preparation of human root canals containing necrotic pulp tissue. *Int Endod J*. 2006;39:484-92.
65. Naenni N TK, Zhender M. Soft tissue dissolution capacity of currently used and potential endodontic irrigants. *J Endod*. 2004;30:785-7.
66. Grossman LI MB. Solution of pulp tissue by chemical agents. *J Endod*. 1982;8:10-2.
67. Christensen CE MS, Eleazer P. Effect of lowering the pH of sodium hypochlorite on dissolving tissue in vitro. *J Endod*. 2008;34:449-52.
68. El Karim I KJ, Hussey D. The antimicrobial effects of root canal irrigation and medication. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2007;103 (4):560-9.
69. White JD. LW, Eleazer PD. The effect of three commonly used endodontic materials on the strength and hardness of root dentin. *J Endod*. 2002;28(12):828-30.
70. Cohen S. HK. Limpieza y conformación del sistema de conductos radicular. HKM ICS, editor: España: Elsevier; 2008.
71. Bryce G. ODD, Ready D., Ng Y., Pratten J., Gulabivala K. Contemporary root canal irrigants are able to disrupt and eradicate single-and dual- species biofilm. *J Endod*. 2009;35(9):1243-48.
72. Butter TK. CJJ. The detoxifying effect of varying concentrations of sodium hypochlorite as endotoxins. *J Endod*. 1992;8:59-66.
73. Hand RE. H-jW. Analysis of the effect of dissolution on the necrotic tissue dissolution property of sodium hypochlorite. *J Endod*. 1978;4:60-4.
74. Vianna ME CG, Gomes BP, Horz HP. Identification and quantification of archaea involved in primary endodontic infections. *J Clin Microbiol*. 2006;44:1274-82.
75. Bystrom A HR, Sjögren U Sundqvist G. . Healing of periapical lesions of pulpless teeth after endodontic treatment with controlled sepsis. *Endod Dent Traumatol*. 1987;3:58-63.
76. Bystrom A SG. Bacteriologic evaluation of the effect of 0.5 percent sodium hypochlorite in endodontic therapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1983;55:424-8.
77. Grigoratos D KJNY, Gulabivala K. Effect of exposing dentine to sodium hypochlorite and calcium hydroxide on its flexural strength and elastic modulus. *Int Dent J*. 2001;34:113-9.
78. Zehnder M KD, Luder H, Sener B, Waltimo T. Tissue-dissolving capacity and antibacterial effect of buffered and unbuffered hypochlorite solutions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2002;94:756-62.
79. Harrison JW HR. The effect of dilution and organic matter on the antibacterial property of 5,25% sodium hypochlorite. *J Endod*. 1981;7:128-32.
80. Abou-Rass M OS. The effects of temperature, concentration and tissue type on the solvent ability of sodium hypochlorite. *J Endod*. 1981;7:376-77.

81. Sirtes G WT, Schaetzle M, Zehnder M. . the effects of temperature on sodium hypochlorite short-term stability, pulp dissolution capacity, and antimicrobial efficacy. *J Endod.* 2005;2005:669-71.
82. Jungbluth H. MM, De-Deus G., Sener B., Zehnder M. Stabilizing sodium hypochlorite at high pH: effects on soft tissue and dentin. *J Endod.* 2011;37(5):693-96.
83. Podbielski A SA, Haller B. Additive antimicrobial activity of calcium hydroxide and chlorhexidine on common endodontic bacterial pathogens. *J Endod.* 2003;29:340-5.
84. Dunavant TR RJ, Glickman GN, Solomon ES, Honeyman AL. Comparative evaluation of endodontic irrigants against *Enterococcus faecalis* biofilms. *J Endod.* 2006;32:527-31.
85. Siqueira JF RI, Favieri A, Lima K. Chemomechanical reduction of the bacterial population in the root canal after instrumentation and irrigation with 1%, 2,5%, and 5,25% sodium hypochlorite. *J Endod.* 2000;6:331-4.
86. Senia ES MJ, Rosen S. The solvent action of sodium hypochlorite on pulp tissue of extracted teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1971;31:96-103.
87. Zehnder M SP, Sener B, Waltimo T. Chelation in the root canal therapy reconsidered. *J Endod.* 2005;31:817-20.
88. Guerisoli DM MM, Walmsley AD, Lumley PJ, Pecora JD. Evaluation of smear layer removal by EDTAC and sodium hypochlorite with ultrasonic agitation *Int Endod J.* 2002;35:418-21.
89. Liolios E EN, Parissis-Messimeris S, Boutsoukis A. The effectiveness of three irrigating solutions on the root canal cleaning after hand and mechanical preparation. *Int Dent J.* 1997;30:51-7.
90. Sayin TC SA, Cehreli ZC, Kalayci S. Calcium loss from root canal dentin following EDTA, EGTA, EDTAC, and tetracycline-HCl treatment with or without subsequent NaOCl irrigation. *J Endod.* 2007;33:581-4.
91. Berutti E MR. A scanning electron microscopic evaluation of the debridement capability of sodium hypochlorite at different temperatures. *J Endod.* 1996;22:467-70.
92. Berutti E MR, Angeretti. Penetration ability of different irrigants into dentinal tubules. *J Endod.* 1997;23:725-7.
93. Dychkala GR. Chlorine and chlorine compounds. ed IGRDBS, editor. Philadelphia: Lea&Febiger;; 1991.
94. Cunningham WT JS. Effect of temperature on the bactericidal action of sodium hypochlorite endodontic irrigants. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1980;50:569-71.
95. Grossman LI RB. Irrigation of root canals. *J Am Dent Assoc.* 1943;30:1915-7.
96. Yamada RS AA, Goldman M, Lin PS. A scanning electron microscopic comparison of a high volume final flush with several irrigating solutions: Part 3. *J Endod.* 1983;9:137-42.

97. Baumgartner JC MC. A scanning electron microscopi evaluationof four root canal irrigation regimens. . J Endod. 1987;13:147-57.
98. Ruff ML MS, Babel BS. In vitro antifungal efficacy of four irrigantes as a final rinse. J Endod. 2006;32:331-3.
99. Cunningham WT CJr, Balekjian AY-. Effect of alcohol on the spreading ability of NaOCl endodontic irrigants. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 1982;54:333-5.
100. FJ. V. Root canal anatomy of the human permanent teeth. oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 1984;58:589-99.
101. O'Brien WJ CR, Peyton FA. Capillary Penetration between dissimilar solids. J Coll Inter Sci 1968;26:500-8.
102. Glantz PO HL. Wetting of dentin by some root canal medicament. Odontol Revy. 1972;23:205.
103. AG. B. Complications in the use of sodium hypochlorite during endodontic treatment . Report of tree cases. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1991;71:346-8.
104. Aponte Rendón R TMM, RoigCayón M. Accidentes durante la irrigación del sistema de conductos radiculares. A proposito de un caso. Endodoncia. 2004;22:225-30.
105. Soares CJ SF, Silva NR, Preira CA. Influence of the endodontic treatment on mechanical proprieties of root dentin. J Endod. 2007;33:603-6.
106. Berutti E AE, Rigolone M, Migliaretti G, Pasqualini D. . Influence of sodium hypochlorite on fracture properties and corrosion of Protaper Rotary instruments. Int Dent J. 2006;39:693-9.
107. Novoa XR M-BB, Varela- Patino P, Collazo A, Macias-Luaces A, Cantatore G, Perez MC, Magan-Munoz F. The corrosion of nikel-titanium rotary endodontic instruments in sodium hypochlorite. Int Dent J. 2007;40:36-44.
108. Sim TP; Knowles JC NY, Shelton J, Gulabivala K. Effect of sodium hypochlorite on mechanical properties of dentine and tooth surface strain. Int Dent J. 2001;34:120-32.
109. Haapasalo HK SE, Waltimo TM, Orstavik D, Haapasalo MP. . Inactivation of local root canal medicaments by dentine: an in vitro study. Int Dent J. 2000;33:126-31.
110. Oncag O HM, Hilmioğlu S, Zekioglu O, Eronat C, Burhanoglu D. Comparison of antibacterial and toxic effects of variouss root canal irrigants. Int Dent J. 2003;36:423-32.
111. Rocas IN SJJ, Santos KR. Association of Enterococcus Faecalis with different forms of periradicular diseases J Endod. 2004;30:315-20.

112. Vahdaty A PFT, Wilson RF. Efficacy of chlorhexidine in disinfecting dentinal tubules in vitro. *Endod Dent Traumatol*. 1993;21:513.
113. Tanomaru Filho M LM, Silva LA, Anibal FF, Faccioli LH. Inflammatory response to different endodontic irrigating solutions. *Int Endod J*. 2002;35:735-9.
114. Fardal O TR. A review of the literature of chlorhexidine in dentistry
J Am Dent Assoc. 1986;112:863-9.
115. Zamany A SK, Spangberg LSW. The effect of chlorhexidine as an endodontic disinfectant. 2003.
116. Dametto FR FC, de almeida Gomes BP, Zaia AA, Teixeira FB de Souza-Filho FJ. In vitro assessment of the
117. Lin S ZO, Weiss EI, Mazor Y, Fuss Z. Antibacterial efficacy of a new chlorhexidine slow release device to disinfect dentinal tubules. *J Endod*. 2003;29:416-8.
118. Rosenthal S SL, Safavi K. Chlorhexidine substantivity in root canal dentin. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 2004;98:488-95.
119. Paquette L LM, Fillery ED, Friedman S. Antibacterial efficacy of chlorhexidine gluconate intracanal medication in vivo. *J Endod*. 2007;33:788-95.
120. De la casa ML LM, Raiden G. Acción solvente de soluciones de irrigación endodóncica. *Endodoncia*. 2006;24:214-8.
121. McDonnell G RA. Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance. *Clin Microbiol Rev*. 1999;12:147-79.
122. Goldsmith M GK, Knowles JC. The effect of sodium hypochlorite irrigant concentration on tooth surface strain. *J Endod*. 2002;28:575-9.
123. Jacinto RC GB, Shah -hn, Ferraz CC, Zaia AA, Souza-Filho FJ. Quantification of endotoxins in necrotic root canals from symptomatic and asymptomatic teeth. *J Med Microbiol*. 2005;54:777-83.
124. Gomes BP SS, Ferraz CC, Teixeira FB, Zaia AA, Valdrighi L, Souza-Filho FJ. Effectiveness of 2% chlorhexidine gel and calcium hydroxide against *Enterococcus faecalis* in bovine root dentine in vitro. *Int Dent J*. 2003;36:267-75.
125. Evanov C LF, Buxton TB, Joyce AP. Antibacterial efficacy of calcium hydroxide and chlorhexidine gluconate irrigants at 37 °C and 46°C. *J Endod*. 2004;30:653-7.
126. Basrani BR MS, Shodi R, Fillery E, Manzur A. Interaction between sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate. *J Endod*. 2007;33:966-99.
127. Kuruvilla JR KM. Antimicrobial activity of 2.5% sodium hypochlorite and 0.2% chlorhexidine gluconate separately and combined, as endodontic irrigants. *J Endod*. 1998;24:472-6.

128. Pardina S SC, Duran F, Roig M, Durany N. Efectividad de la clorhexidina y del hipoclorito de sodio en la eliminación del *Enterococcus faecalis* in vitro. *Endodoncia*. 2004;22:109-15.
129. Ari H EA. Effect of endodontic irrigation solutions on mineral conten of the root canal dentin using ICP-AES technique. *J Endod*. 2005;31:187-9.
130. Ghoddusi J RA, Rashed T, Ghaziani P, Akbari M. An evaluation of microbial leakage after using MTAD as a final irrigation. *J Endod*. 2007;2007:173-6.
131. Lester KS BA. Scanning electron microscopy of instrumented, irrigated and filled root canals. *Br Dent J*. 1977;143:359-67.
132. B. NÖ. Chelation in root canal therapy. *Odontol Tidskr*. 1957;65:3-11.
133. DA. L. Use of acid cleanser in endodontic therapy. *J Am Dent Assoc*. 1975;90:148-51.
134. www.portalesmedicos.com. portalesmedicos 2015.
135. Eldeniz AU OF, Hadimli HH, Erganis O. Bactericidal efficacy of Er, Cr: YSGG laser irradiation againts *Enterococcus Faecalis* compared with NaOCl irrigation: an ex vivo pilot study. *Int Endod J*. 2007;40:112-9.
136. FS. W. Métodos de tratamiento intraconducto, principios básicos y avanzados. W. IFS, editor. España: Harcourt Brace de España S.A; 1997.
137. De-Deus G PS, Pinho Mauricio MH, Prioli R. Real-time atomic force microscopy of root dentine during demineralilzation when subjected to chelating agents. *Int Endod J*. 2006;39:683-92.
138. Zaccaro MF AJ, Scelsa P. Efficacy of final irrigation. A scaning electron microscopic evaluation. *J Endod*. 2000;26:355-8.
139. M. H. Irrigación del conducto radicular: objetivos, soluciones y técnicas. *Endod Pract*. 1998;4:15-29.
140. Deltour G VJ, Lartigau G. Lethal effect of ozone on certain aerobic bacteria strains in a model of dental pulp chamber. *rev Odontostomatol midi Fr*. 1970;28:278-84.
141. Berrington AW PS. Investigation of gaseous ozone for MRSA decontamination of hospital side-rooms. *J Hosp Infect*. 1998;40:61-5.
142. Stübinger S SR, Filippi A. The use of ozone in dentistry and maxillofacial surgery: a rewirew. *Quintessence Int*. 2006;37:353-9.
143. Onisor I BS, Krejci I. Influence of different surface treatments on marginaladaptation in enamel and dentin. *J Adhes Dent* 2007;9:297-303.
144. Nagayoshi M KC, Fukuizumi T, Nishihara T, Terashita M. Antimicrobial effect of ozonated water on bacteria invading dentinal tubules. *J Endod*. 2004;30:778-81.
145. Hems RS GK, Ng YL, Ready D, Spratt DA. An in vitro evaluation of the ability of ozone to kill a strain of *Enterococcus faecalis*. *Int Endod J*. 2005;38:22-9.

146. Edgar SW MJ, Baumgartner JC. The antimicrobial effect of chloroform on *Enterococcus faecalis* after gutta-percha removal. *J Endod.* 2006;32:1185-7.
147. Clegg MS VF, Walker C, Belanger M, Britto LR. The effect of exposure to irrigant solutions on apical dentin biofilms in vitro. *J Endod.* 2006;32:434-7.
148. Giardino L AE, Becce C, Rimondini L, Morra M. Surface tension comparison of four common root canal irrigants and two new irrigants containing antibiotic
J Endod. 2006;32:1091-3.
149. Torabinejad M CY, Khademi AA, Bakland LK, Shabahang S. The effect of various concentrations of sodium hypochlorite on the ability of MTAD to remove the smear layer. *J Endod.* 2003;29:233-9.
150. Torabinejad M SS, Aprecio RM, Kettering JD. The antimicrobial effect of MTAD: an in vivo investigation. *J Endod.* 2003;29:400-3.
151. Marais JT WW. Antimicrobial effectiveness of electro-chemically activated water as an endodontic irrigationsolution. *Int Endod J.* 2001;34:237-43.
152. MF. A. Lactic acid root canal irrigation for dowel and core treatment: a pilot study. *Int Endod J.* 2004;92:540-5.
153. Al-Kilani MG WJ, Dummer PM. Preliminary in vitro evaluation of Carisolv as a root canal irrigant. *Int Endod J.* 2003;36:433-40.
154. QD. DD. Frequency, location, and direction of the lateral, secondary, and accessory canals. *J Endod.* 1975;1:361-6.
155. Li-sha G KJ, Ling J, Kyuchai K, Pashley D, Tay F. Rewiew of Contemporary Irrigant Agitation Techniques and Divices. . *J Endod.* 2009;35:791-804.
156. Van der Sluis LW GG, Wu MK, Wesselink PR. The influence of volumen, type of irrigant and flushing method on removing artificially placed dentine debris from the apical root canal during passive ultrasonic irrigation. *Int Endod J.* 2006;39:472-6.
157. Kahn FH RP, Gliksberg J. An in vitro evaluation of the irrigating characteristics of ultrasonic and subsonic handpieces and irrigating needles and probes. *J Endod.* 1995;21:177-280.
158. Hauser V BA, Frentzen M. Penetration depth of a dye marker into dentine using a novel hydrodynamic sYstem (RinsEndo). *Int Dent J.* 2007;40:644-52.
159. Wu MK DP, Wesselink PR. Consequences of and strategies to deal with residual post-treatment root canal infeccion. *Int Endod J.* 2006;39:343-56.
160. Z. R. Effectiveness of root canal irrigation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1977;44:306-12.
161. TW. C. Mechanical effectiveness of the canal irrigation. *J Endod.* 1983;9:475-9.
162. TW. C. Mechanical effectiveness of the root canal irrigation. *J Endod.* 1983;9:475-9.

163. Goldman M KJ, Goldman LB, Clausen H, Grady J. New method of irrigation during endodontic treatment. *J Endod.* 1976;2:257-60.
164. Boutsoukis C LT, Kastrinakis E, Bekiaroglou P. Measurement of pressure and flow rates during irrigation of a root canal ex vivo with three endodontic needles. *Int Dent J.* 2007;40:504-13.
165. Bradford CE EP, Downs KE, Scheetz JP. Apical pressures developed by needles for canal irrigation. *J Endod.* 2002;28:333-5.
166. Serper A OM, Calt S. Accidental sodium hypochlorite-induced skin injury during endodontic treatment. *J Endod.* 2004;30:180-1.
167. Al -Hadlaq SM. A-TS, Al-Sulami U, Saad Ay. Efficacy of a new brush-covered irrigation needle in removing root canal debris: a scanning electron microscopic study. *J Endod.* 2006;32:1181-4.
168. Keir DM SE, Montgomery S. Effectiveness of a brush in removing postinstrumentation canal debris. *J Endod.* 1990;16:323-7.
169. Lee S, Wu MK, Wesselink PR. The effectiveness of syringe irrigation and ultrasonics to remove debris from simulated irregularities within prepared root canal walls. *Int Endod J.* 2004;37:672-8.
170. McGill S GK, Mordan N, Ng YL. The efficacy of dynamic irrigation using a commercially available system (RinsEndo) determined by removal of collagen "bio-molecular film" from an ex vivo model. *Int Endod J.* 2008;41:602-8.
171. Huang T-Y GK, Ng Y-L. A bio-molecular film ex-vivo model to evaluate the influence of canal dimensions and irrigation variables on the efficacy of irrigation. *Int Dent J.* 2008;41:60-71.
172. GJ. S. The EndoVac Method of Endodontic Irrigation Safety First. *Dentistry today.* 2008;48:48-50.
173. Tsesis I AB, Tame A, Kfir A. The effect of maintaining apical patency on canal transportation. *Int Endod J.* 2008;41:431-5.
174. Arias A AM, Hidalgo JJ, Macorra JC. Relationship between Postendodontic Pain, Tooth Diagnosis Factor, and Apical Patency. *J Endod.* 2010;35:560-4.
175. González J DF, Albuquerque M, García T, Mercade M, Morello S, Roig M. Apical transportation created using three different patency instruments. *Int Endod J.* 2010;43:560-4.
176. Weise M RM, Ebert J, Petschelt A, Frankenberger R. Four methods for cleaning simulated lateral extensions of curved root canals: a SRM evaluation. *Int Endod J.* 2007;40:991-2.
177. Walters MJ BJ, Marshall JG. Efficacy of irrigation with rotary instrumentation. *J Endod.* 2002;28:837-9.

178. Setlock J FM, BeGole E, Bruzick M. Evaluation of canal cleanliness and smear layer removal after the use of the Quantec-E irrigatio system and syringe: a comparative scanning electron microscope study. *oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2003;96:614-7.
179. Tronstad L BF, Schwartzben L, Frasca P. Effectiveness and safety of a sonic vibratory endodontic instrument. *Endod Dent Traumatol.* 1985;1:69-76.
180. Ahmad M PFT, Crum LA. Ultrasonic debridement of root canals: acoustic streaming and its possible role. *J Endod.* 1987;13:490-9.
181. Walmsley AD LP, Laird WR. Oscillatory pattern of powered endodontic files. *Int Endod J.* 1989;22:125-32.
182. WG. P. Removal of oral biofilm by sonic phenomena.
. *Am J Dent.* 2005:345-52.
183. Barnett F GR, Tronstad L. Clinical suitability of a sonic vibratory endodontic instrument. *Endod Dent Traumatol.* 1985;1:77-81.
184. Stamos DE SE, Haasch GC, Gerstein H. An in vitro comparison study to quantitate the debridement ability of hand, sonic, and, ultrasonic instrumentation. *J Endod.* 1987;13:434-40.
185. Reynolds MA MS, Walton RE, Krell KV, Rittman BR. An in vitro histological comparison of the step-back, sonic 1987.
186. Pugh RJ GA, Glaser CG, Luciano WJ. A comparison of four endodontic vibratory systems. *Gen Dent* 1989;37:296-301.
187. Walker TL dRC. Histological evaluation of ultrasonic and sonic instrumentation of curved root canals. *J Endod.* 1989;15:49-59.
188. Jensen SA WT, Hutter JW, Nicoll BK. Comparison of the cleaning efficacy of passive sonic activation and passive ultrasonic activation after hand instrumentation in molar root canals. *J Endod.* 1999;25:735-8.
189. Sabins RA JJ, Hellstein JW. A comparison of the cleaning efficacy of short-term sonic and ultrasonic passive irrigation after hand instrumentation in molar canals.
. *J Endod.* 2003;29:674-8.
190. CJ. R. Endodontic disinfection: tsunami irrigation. *Endod Pract.* 2008;2:7-15.
191. CJ. R. Microbrush for endodontic use. *Dc: United States Patent.* 2001;6:617.
192. Caron G NK, Bronnec F, Machtou P. Effectiveness of the different final irrigant activation protocols on smaer layer removal in curved canals. *J Endod.* 2010;36:1361-6.
193. CJ R. Cleaning and shaping the root canal system. *Pathways of the pulp.* 2002;8:231-91.
194. Desai P HV. Comparative safety of various intracanal irrigation systems. *J Endod.* 2009;35
545-9

195. Brito P SL, Machado de Oliveira JC, Alves FRF, De-Deus G, Lopes HP, Siqueira J. Comparison of the effectiveness of three irrigation techniques in reducing intracanal *Enterococcus faecalis* populations: an in vitro study. *J Endod*. 2009;35:1422-7.
196. MJ R. The use of ultrasonics in root canal therapy and root resection. *J Med*. 1957;12:12-8.
197. Martin H CW, Norris JP, Cotton WR. Ultrasonic versus hand filing of dentin: a quantitative study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1980;49:79-81.
198. T. A. Scanning electron microscope study comparing the efficacy of endodontic irrigating systems. *Int Endod J*. 1987;20:287-94.
199. JA. C. Factors affecting the clinical efficiency of ultrasonic endodontics: a scanning electron microscopy study. *Int Endod J*. 1995;28:47-53.
200. Gulabivala K SC, Lewsey JD, Ghorri S, Ng YL, Spratt DA. Effectiveness of electrochemically activated water as an irrigant in an infected tooth model. *Int Endod J*. 2004;37:624-31.
201. Van der Sluis LW WM, Wesselink PR. A comparison between a smooth wire and a K-file in removing artificially placed dentine debris from root canals in resin blocks during ultrasonic irrigation. *Int Endod J*. 2005;38:593-6.
202. Carver De Paz LE NJ, Reader A, Beck M. In vivo antibacterial efficacy of ultrasound after hand and rotary instrumentation in human mandibular molars. *J Endod*. 2007;33:1038-43.
203. Munley PJ GG. Comparison of passive ultrasonic debridement between fluted and nonfluted instruments in root canals. *J Endod*. 2007;33:578-80.
204. Burleson A NJ, Reader A, Beck M. The in vivo evaluation of hand/rotary/ultrasound instrumentation in necrotic, human mandibular molars. *J Endod*. 2007;33:782-7.
205. Ferreira RB MM, Silva-Souza YT, Souza-Neto M. Effectiveness of root canal debris removal using passive ultrasound irrigation with chlorhexidine digluconate or sodium hypochlorite individually or in combination as irrigants. *J Contemp Dent Pract*. 2008;9:68-75.
206. Goodman A RA, Beck M, Melfi R, Meyers W. An in vitro comparison of the efficacy of the step-back technique versus a step-back/ultrasonic technique in human mandibular molars. *J Endod*. 1985;11:249-56.
207. Lev R RA, Beck M, Meyers W. An in vitro comparison of the step-back technique versus a step-back/ultrasonic technique for 1 and 3 minutes. *J Endod*. 1987;13:523-30.
208. Archer R RA, Nist R, Beck M, Meyers WJ. An in vivo evaluation of the efficacy of ultrasound after step-back preparation in mandibular molars. *J Endod*. 1992;18:549-52.

209. Weller RN BJ, Bernier WE. Efficacy of ultrasonic cleaning. *J Endod.* 1980;6:740-3.
210. Lumley PJ WA, Walton RE, Rippin JW. Effect of precurving endosonic files on the amount of debris and smear layer remaining in curved root canals. *J Endod.* 1992;18:616-9.
211. Walmsley AD MC, Krell Kv. Canal markings produced by endosonic instruments. *Endod Dent Traumatol.* 1991;15:84-9.
212. E. G. Changing concepts in endodontic therapy. *J Am Dent Assoc.* 1985;110:470-8.
213. Abbott PV HP, Cardaci SC, Hume WR, Heithersay GS. An SEM study of the effects of different irrigation sequences and ultrasonics. *Int Endod J.* 1991;24:308-16.
214. AD. W. Ultrasound and root canal treatment: the need for scientific evaluation. *Int Endod J.* 1987;20(3):105-11.
215. Halford A. OCAA, Basrani B., Friedman S., Kishen A. Synergistic effect of microbubble emulsion and sonic or ultrasonic agitation on endodontic biofilm in vitro . *J Endod.* 2012;38:1530-4.
216. JA. C. The effect of ultrasonic endodontics on the temperature of the root canal wall. *J Endod.* 1988;14:554-9.
217. Moorer WR WP. Factors promoting the tissue dissolving capability of sodium hypochlorite. *Int Endod J.* 1982;15:187-96.
218. Druttman AC SC. An in vitro comparison of ultrasonic and conventional methods of irrigant replacement.
Int Endod J. 1989;22:174-8.
219. Hülsmann M HW. Complications during root canal irrigation: literature review and case reports. *Int Endod J.* 2000;33:186-93.
220. Miller Ta BC. Comparison of the antimicrobial efficacy of irrigation using the Endo Vac to endodontic needle delivery. *J Endod.* 2010;36:509-11.
221. Nielsen BA BC. Comparison of the EndoVac system to needle irrigation of the canals. *J Endod.* 2007;33:611-5.
222. Migun NP AM. Filling of one-side-closed capillaries immersed in liquids. *J Colloid Interface Sci.* 1996;181:337-40.
223. Migun NP SA. Model of film flow in a dead-end conic capillary *J End PhysThermophys.* 2002;75:1422-8.
224. Tay FR GL, Schoeffel GJ, Wimmer C, Susin L, Zhang K, et al. Effect of vapor lock on root canal debridement by using a sidevented needle for positive-pressure irrigant delivery. *J Endod.* 2010;36:745-50.
225. Lendini M AE, Migliaretti G, Berutti E. The effect of high-frequency electrical pulses on organic tissue in root canals. *Int Endod J.* 2005;38:531-8.

226. Virtej A MC, Raab W, Pfeffer K, Barthel CR. Determination of the performance of various root canal disinfection methods after in situ carriage. *J Endod.* 2007;33:926-9.
227. Fukumoto Y KI, Yoshioka T, Kobayashi C, Suda H. An ex vivo evaluation of a new root canal irrigation technique with intracanal aspiration. *Int Endod J.* 2006;39:93-9.
228. Fukumoto Y YT, Suda H. Intra-canal aspiration technique for root canal irrigation. Part 1. Overflow of irrigating solution beyond the apical foramen. . *The Japanese J of Conservative Dentistry* 2004;47:34-42.
229. Y. F. Intra-canal aspiration technique for root canal irrigation: evaluation of smear layer removal. *The J of Stomatological Society.* 2003;72:13-8.
230. Lussi A ML, Hotz P, Grsrey J. A new non-instrumental technique for cleaning and filling root canals. . *Int Endod J.* 1995;28:1-6.
231. Attin T BW, Zirkel C, Lussi A. Clinical evaluation of the cleansing properties of the noninstrumental technique for cleaning root canals. *Int Endod J.* 2002;35:929-33.
232. Kimura Y W-SP, Matsumoto K. Lasers in endodontics: a review. *Int Endod J.* 2000;33:173-85.
233. Wang QQ ZC, Yin XZ. Evaluation of the bactericidal effect of Er,Cr:YSGG, and Nd:YAG lasers in experimentally infected root canals. *J Endod.* 2007;33:830-2.
234. Bahcall JK ML, Walia H, Belardi DW. Scanning electron microscopic comparison of the canal preparation with Nd:YAG laser and hand instrumentation: a preliminary study. *Gen Dent.* 1993;41:45-7.
235. Ramskold LO FC, Stromberg T. Thermal effects and antibacterial properties of energy levels required to sterilize stained root canals with an Nd:YAG laser irradiation. *J Endod.* 1997;23:96-100.
236. Metzger Z DM, Better H, Abramovitz I. Sensitivity of oral bacteria to 254 nm ultraviolet light. *Int Endod J.* 2007;40:120-7.
237. Kakehashi S SH, Fitzgerald RJ. The effect of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. . *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1965;20:340-9.
238. Lucas WM VdS, Maikel, Vogels, Bram, Verhaagen, Macedo, Wesslink. Study on the influence of refreshment/activation cycles and irrigants on mechanical cleaning Efficiency during ultrasonic activation of the irrigant. *J Endod.* 2010;36(4):737-40.
239. Bhuvu B. PS, Wilson R., Beighton D., Mannocci F. The effectiveness of passive ultrasonic irrigation on intraradicular *Enterococcus faecalis* biofilms in extracted single-root human teeth. *Int Endod J.* 2010;43:241-50.
240. Wiseman A. CT, Paranjpe A., Flake N., Cohenca N. Efficacy of Sonic and Ultrasonic Activation for Removal Of Calcium Hydroxide from mesial canals of mandibular molars: A Microtomographic Study. *J Endod.* 2011;37:235-38.

241. Ling Zou YS, Wei Li, Haasapalo M. Penetration of Sodium Hypochlorite into Dentin. *J Endod.* 2010;36:793-96.
242. Brunson M. HC, Johnson DJ, Cohenca N. Effect of apical preparation size and preparation taper on irrigant volume delivered by using negative pressure irrigation system. *J Endod.* 2010;16:721-4.
243. Falk KW SC. The influence of preparation size on the mechanical efficacy of intracanal Nd:YAG laser irradiation: an in vitro study. *J Endod.* 2005;31:742-5.
244. Wu MK WP. Efficacy of three techniques in cleaning the apical portion of curved root canals. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1995;79:492-6.
245. Cruz-Filho AM. S-NM, Savioli RN., Silva RG., Vansan LP. Effect of chelating solutions on the microhardness of root canal lumen dentin. *J Endod.* 2011;37(3):358-62.
246. Oliveira LD. CC, Nunes W., Valera MC., Camargo CHR., Jorge AOC. Effects of chlorhexidine and sodium hypochlorite on the microhardness of root canal dentin. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2007;104(4):125-28.
247. Leonardo MR RM, Silva LA, Ito IY, Bonifacio KC. EM evaluation of bacterial biofilm and microorganisms on the apical external root surface of human teeth. *J Endod.* 2002;28:815-8.
248. Yesilsoy C. WE, Cleveland D., Philips E., Trope M. Antimicrobial and toxic effects of established and potential root canal irrigants. *J Endod.* 1995;21:513-5.
249. Retamozo B. SS, Johnson N., Aprecio RM., Torabinejad M. Minimum contact time and concentration of sodium hypochlorite required to eliminate *Enterococcus faecalis*. *J Endod.* 2010;36:520-3.
250. SS. P. In vivo and in vitro studies of the effect of the disodium salt of ethylenediamine tetra-acetate on human dentine and its endodontic implications. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1963;16:83-103.
251. Siqueira JF Jr BM, Fraga RC., de Uzeda M. Antibacterial effect of endodontic irrigants on black-pigmented gram-negative anaerobes and facultative bacteria. *J Endod.* 1998;24:414-6.
252. Grawehr M. SB, Waltimo T., Zehnder M. . Interaction of ethylenediamine tetraacetic acid with sodium hypochlorite in aqueous solutions. *Int Endod J.* 2003;36:411-7.
253. Baca P. JP, Arias Moliz., González-Rodríguez MP., Ferrer-Luque CM. . Residual and antimicrobial activity of final irrigation protocols on *Enterococcus faecalis* biofilm in dentin. *J Endod.* 2011;37:363-6.
254. Goldman LB. GM, Kronman JH, Lin PS. The efficacy of several irrigating solutions for endodontics: a scanning electronmicroscopystudy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1981;52:197-204.
255. Hülsmann M SS. Efficacy, cleaning ability and safety of different devices for gutta'percha removal in root canal retreatment. *Int Endod J.* 1987;30:227-33.

256. Mello I. CRC, Antoniazzi JH, Coil J. Influence of different volume of EDTA for final rinse on smear layer removal. *Oral Surg*. 2008;106:40-3.
257. Baumgartner JC JS, Marshall JG. Comparison of the antimicrobial efficacy of 1.3% NaOCl/BioPure MTAD to 5,25% NaOCl/15% EDTA for root canal irrigation. *J Endod*. 2007;33:48-51.
258. Ballal NV. YP, Mala K., Bhat KS., Hussen SS., Pathak S. In vitro antimicrobial activity of maleic acid and ethylenediaminetetraacetic acid on endodontic pathogens. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 2011;112:696-700.
259. Molander A RC, Dahlen G, Kvist T. Microbiological status of root filled teeth with apical periodontitis. *Int Endod J*. 1998;31:1-7.
260. Siqueira JF Jr dUM. Intracanal medicaments: evaluation of the antibacterial effects of chlorhexidine, metronidazole, and calcium hydroxide associated with three vehicles. *J Endod*. 1997;23:167-9.
261. Siren EK. HM, Ranta K., Salmi P. Microbiological findings and clinical treatment procedures in endodontic cases selected for microbiological investigation. *Int Endod J*. 1997;30:91-5.
262. Peciuliene V. RA, Balciuniene I., Haapasalo M. Isolation of yeasts and enteric bacteria in root-filled teeth with chronic apical periodontitis. *Int Endod J*. 2001;34:429-34.
263. Örstavik D. HM. Disinfection by endodontic irrigants and dressing of experimentally infected dentinal tubules. *Endod Dent Traumatol*. 1990;4:142-9.
264. d'Arcangelo C. VG, De Facio P. An evaluation of the action different root irrigants on facultative aerobic-anaerobic, obligate anaerobic, and microaerophilic bacteria. *J Endod*. 1999;25:351-3.
265. Lynne RE. LF, West LA., Patton WR., Buxton TB., McPherson JC. In vitro antimicrobial activity of various medication preparation on *Enterococcus faecalis* in root canal dentin. *J Endod*. 2003;29:187-90.
266. Ribeiro Sobrinho AP. BM, Nicoli JR., Carvalho MA., Farias LM., Bambirra EA., Bahia MG., Viera EC. Experimental root canal infection in conventional and germ-free mice. *J Endod*. 1998;24:405-8.
267. Akpata ES. BH. Bacterial invasion of pulpal dentin wall in vitro. *J Dent Res*. 1982;61:1375-9.
268. Paiva JG. AJ. O uso de uma associacao de peroxido de ureia e detergente no preparo quimico-mecanico dos canais radiculares. *Rev Ass Paul Cir Dent*. 1973;27:416-23.

269. Parmar D HC, Leichter JW., McNaughton A., Tompkins GR. Bacterial localization and visibly assessment in human ex vivo dentinal tubules by fluorescence confocal laser scanning microscopy. *Int Endod J.* 2011;44:644-51.
270. Haapasalo M. SY, Qian W., Gao Y. Irrigation in endodontics. *Dent Clin North Am.* 2010;54:291-312.
271. Wu MK dSF, Wesselink PR. A primary observation on the preparation and obturation of oval canals. *Int Endod J.* 2001;34:137-41.
272. Gu L-S. KJ, Ling J, Choi KK., Pashley DH, Tay FR. Review of contemporary irrigant agitation techniques and devides. *J Endod.* 2009;35:791-804.
273. Boutsoukis C LT, Kastrinakis E, Wesselink PR., Lucas WM., Van der Sluis. The effect of Needle-insertion depth on th eirrigant flow the root canal: Evaluation using an unsteady computational fluid dynamics model. *J Endod.* 2010;36:1664-8.
274. Uroz-Torres D G-RM, Ferrer-Luque MC. Efectiveness of the EndoActivator system in removing the smear layer after root canal instrumentation. *J Endod.* 2010;36:308-11.
275. Niu W. YT, Kobayashi C., Suda H. A scanning electron microscopic study of dentinal erosion by final irrigation with EDTA an NaOCl solutions. *Int Endod J.* 2002;35:934-39.
276. Lofti M. VS, Saghiri MA., Zand V, Ranjkesh B., Ghasemi N. Effect of MTAD as a final rinse on removal of smear layer in ten-minute preparation time. *J Endod.* 2012;38:1391-4.
277. Kanter V. WE, Nair U., Varella C., Kanter K.,, Anusavice K., Pileggi R. A quantitative analysis of ultrasonic versus sonic endodontic systems on canal cleanliness and obturation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2011;112:809-13.
278. Canalda C. PJ, Berástegui E. Actualización en endodoncia 2010. *Endodoncia.* 2010;29(3):145-64.
279. Townsend C. MJ. An in vitro comparison of new irrigation and agitation techniques to ultrasonic agitation in removing bacteria from a simulated root canal. *J Endod.* 2009;35:1040-3.
280. Spoleti P. SM, Spoleti MJ. Bacteriological evaluation of passive ultrasonic activation. *J Endod.* 2003;29:12-4.
281. Alves FRF. AB, Neves MAS., Moreno JO., Rocas IN., Siqueira Jr. JF. Disinfecting ovalshaped root canals: Efectiveness of diferent supplementary approaches. *J Endod.* 2011;37:496-501.
282. Paiva SSM. SJJ, Rocas IN., Carmo FL., Ferreira DC., Curvelo JAR. Supplementing the antimicrobial effects of chemomechanical debridement with either passive ultrasonic irrigation or a final rinse with chlohexidine: A clinical study. *J Endod.* 2012;38:1202-6.
283. Harrison AJ. CP, Parashos P., Messer HH. The effect of ultrasonically actived irrigation on reduction of *Enterococcus faecalis* in experimentally infected root canals. *Int Endod J.* 2010;43:968-77.

284. Gómez J. MM, Jimenez L.,. Irrigacion ultrasónica pasiva comparada con irrigación manual en la eliminación del E. f del sistema de conductos 2014 [cited 2014 2014].
285. Blank-Gonçlves LM. NC, Rosa Martín GM., De lima Machado ME. Qualitative analysis of the removal of the smear layer in the apical third of curved roots: conventional irrigation versus activation systems. J Endod. 2011;37:1268-71.
286. Muñoz HR. CQK. In vivo efficacy of three different endodontic irrigation systems for irrigant delivery to working length of mesial canals of mandibular molars. J Endod. 2012;38:445-8.
287. Malki M VB, Jiang-L-M. Irrigant flow beyond the insertio depth of an ultrasonically oscillating file in straight and curved canals: visualization and cleaning efficacy. J Endod. 2012;38:657-61.
288. Shweta Goel S. TS. Smear layer removal with passive ultrasonic irrigation and the Navitip: a scanning electron microscopy study. Oral Surg. 2009;108:465-70.

